

**KELIMPAHAN BAKTERI RIZOSFER PADA PERTANAMAN
POLIKULTUR KOPI DAN PINUS DENGAN PENGGUNAAN
HERBISIDA DAN TANPA HERBISIDA DI HUTAN
PENDIDIKAN UB *FOREST***

Oleh :
NURUL ARIANI



**UNIVERSITAS BRAWIJAYA
FAKULTAS PERTANIAN
MALANG
2018**

**KELIMPAHAN BAKTERI RIZOSFER PADA PERTANAMAN
POLIKULTUR KOPI DAN PINUS DENGAN PENGGUNAAN
HERBISIDA DAN TANPA HERBISIDA DI HUTAN
PENDIDIKAN UB FOREST**

OLEH

NURUL ARIANI

145040201111236

PROGRAM STUDI AGROEKOTEKNOLOGI

MINAT PERLINDUNGAN TANAMAN

SKRIPSI

**Diajukan sebagai salah satu syarat memperoleh
Gelar Sarjana Pertanian Strata Satu (S-1)**

**UNIVERSITAS BRAWIJAYA
FAKULTAS PERTANIAN
JURUSAN HAMA DAN PENYAKIT TUMBUHAN
MALANG
2018**

PERNYATAAN

Saya menyatakan bahwa segala pernyataan dalam skripsi ini merupakan hasil penelitian saya sendiri, dengan bimbingan komisi pembimbing. Skripsi ini tidak pernah diajukan untuk memperoleh gelar di Perguruan Tinggi manapun dan sepanjang pengetahuan saya juga tidak terdapat karya atau pendapat yang pernah ditulis atau diterbitkan oleh orang lain, kecuali yang dengan jelas ditunjukkan rujukan dalam naskah ini dan disebutkan dalam daftar pustaka.

Malang, Juli 2017

Nurul Ariani



KATA PENGANTAR

Puji syukur penulis panjatkan kehadiran Allah SWT yang dengan rahmat dan hidayahNya, penulis dapat menyelesaikan proposal penelitian dengan judul “Kelimpahan Bakteri Rizosfer pada Pertanaman Polikultur Kopi dan Pinus dengan Penggunaan Herbisida dan Tanpa Herbisida di Hutan Pendidikan UB Forest. ”.

Pada kesempatan ini penulis menyampaikan terima kasih kepada Dr. Ir. Ludji Pantja Astuti, M.S. selaku ketua jurusan Hama dan Penyakit Tumbuhan Fakultas Pertanian Universitas Brawijaya serta Bapak Prof. Dr. Ir. Abdul Latief Abadi, M.S selaku pembimbing utama dan Ibu Restu Rizkyta Kusuma, SP., M.Sc selaku dosen pembimbing pendamping yang telah merelakan waktu dan tenaga untuk memberikan bimbingan, bantuan, arahan, nasihat, dan semangat yang membantu penulis dalam menyelesaikan proposal penelitian ini. Penghargaan yang tulus penulis berikan kepada orang tua, adik dan teman-teman atas doa dan dukungannya yang diberikan kepada penulis.

Penulis menyadari bahwa dalam penulisan skripsi ini masih terdapat banyak kekurangan baik dari materi, susunan bahasa dan sistematika. Oleh karena itu, kritik dan saran yang membangun sangat diharapkan penulis dan semoga proposal penelitian ini dapat memberikan sumbangan pengetahuan dan pemikiran dalam kemajuan ilmu pengetahuan.

Malang, Agustus 2018

Penulis

RIWAYAT HIDUP

Penulis dilahirkan di Demak pada tanggal 11 September 1996 sebagai putri pertama dari tiga bersaudara. Penulis mengawali proses belajar di TK Pamardisiwi Mrisen Wonosalam pada tahun 2000-2002 kemudian penulis menempuh pendidikan dasar di SDN 2 Mrisen Wonosalam Demak pada tahun 2002-2008, pendidikan menengah pertama di MTs NU Demak pada tahun 2008-2011 dan pendidikan menengah atas di SMAN 1 Demak tahun 2011-2014. Penulis dinyatakan terdaftar sebagai mahasiswa strata-1 pada Program Studi Agroekoteknologi, Fakultas Pertanian, Universitas Brawijaya melalui jalur undangan SNMPTN pada tahun 2014. Pada semester 5, penulis memilih jurusan Perlindungan Tanaman dengan konsentrasi bakteri penyebab penyakit tanaman.

Selama menjadi mahasiswa, selain aktif dibidang akademik penulis juga aktif dalam kegiatan non akademik dengan mengikuti unit kegiatan mahasiswa seperti Staff muda PERS Mahasiswa pada tahun 2014, Agriculture Leadership Progam tahun 2014, Staff Kementrian Pemuda dan Budaya BEM Fakultas Pertanian tahun 2015-2016, Staff Ahli Pusat dan Jaminan Mutu Organisasi BEM Fakultas Pertanian tahun 2016-2017, DPM Himpunan Mahasiswa Perlindungan Tanaman tahun 2017-2018. Penulis juga mengikuti beberapa kepanitiaan sebagai divisi acara Agriculture Vaganza Dies Natalis Fakultas Pertanian tahun 2015, divisi PDD Hari Olahraga Nasional Fakultas Pertanian tahun 2016, divisi SPV Raja Brawijaya 2016, divisi Perlengkapan Expo Kewirausahaan Fakultas Pertanian. Selain itu penulis juga pernah menjadi asisten praktikum seperti Bioteknologi Pertanian tahun 2016/2017, Hama dan Penyakit Penting Tanaman pada tahun 2016/2017 dan pada tahun 2017/2018, Manajemen Hama dan Penyakit Tanaman tahun 2017/2018 serta Kewirausahaan tahun 2017/2018. Selama menjadi mahasiswa penulis juga pernah menjadi finalis lomba karya tulis ilmiah nasional VEIN FKH Universitas Brawijaya, mendapatkan beasiswa PPA tahun 2016/2017, lolos pendanaan PKM Penelitian KEMENRISTEKDIKTI tahun 2018 dan lolos menjadi peserta PIMNAS 31 tahun 2018 di Yogyakarta.

RINGKASAN

NURUL ARIANI. 145040201111236. Kelimpahan Bakteri Rizosfer pada Pertanaman Polikultur Kopi dan Pinus dengan Penggunaan Herbisida dan Tanpa Herbisida di Hutan Pendidikan UB Forest. Di bawah bimbingan Prof. Dr. Ir. Abdul Latief Abadi, M.S. sebagai Pembimbing Utama dan Restu Rizkyta Kusuma, S.P., M.Sc. sebagai Pembimbing Pendamping.

Rizosfer merupakan bagian dari tanah yang terdapat pada sekitar perakaran tanaman yang biasanya terdapat banyak mikroorganisme termasuk bakteri yang dapat meningkatkan kualitas biologi tanah sehingga membantu pertumbuhan tanaman. Di hutan pendidikan UB Forest terdapat banyak tanaman kopi yang dibudi dayakan polikultur dengan pinus namun terdapat beberapa lahan yang menggunakan herbisida berbahan aktif *Glifosat* 42%. Pemberian herbisida tersebut dilakukan untuk mengendalikan gulma yang berada disekitar tanaman kopi sehingga hal tersebut dapat mempengaruhi mikroorganisme pada rizosfer salah satunya yaitu bakteri. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui kelimpahan bakteri rizosfer pada lahan yang tanpa menggunakan herbisida dan lahan yang menggunakan herbisida pada pertanaman polikultur kopi dan pinus di UB Forest.

Penelitian ini dilaksanakan di Laboratorium Mikrobiologi UIN Maulana Malik Ibrahim Malang dan Laboratorium Penyakit Tumbuhan Jurusan Hama dan Penyakit Tumbuhan Fakultas Pertanian Universitas Brawijaya Selama 4 bulan dari bulan Februari 2018 - Juni 2018. Tahapan penelitian yaitu mengambil sampel rizosfer tanaman polikultur kopi dan pinus, isolasi bakteri dengan metode pengenceran bertingkat, perhitungan kelimpahan, uji hipersensitif, identifikasi bakteri secara fisiologi dan biokimia, serta pengujian pada media NA yang ditambahkan herbisida dengan 5 konsentrasi yang berbeda.

Hasil dari isolasi bakteri didapatkan 28 isolat pada lahan dengan herbisida dan 12 isolat pada lahan tanpa herbisida yang mempunyai bentuk koloï dan morfologi yang berbeda. Dari isolat tersebut telah diidentifikasi hingga tingkat genus Pada isolat dan telah diidentifikasi hingga tingkat genus diantaranya bakteri tersebut yaitu *Erwinia* sp., *Pantoea* sp., *Pseudomonas* sp., *Xanthomonas* sp., *Bacillus* sp., dan *Clostridium* sp. Pada pengujian fisiologis dengan tanaman tembakau isolate bakteri tersebut dapat mempunyai potensi sebagai patogen dan non patogen terhadap tanaman serta selain itu potensi yang dimiliki oleh bakteri tersebut antara lain sebagai agens antagonis. Dari hasil identifikasi tersebut dilakukan pengujian isolat bakteri yang dominan yaitu *Erwinia* sp., *Pantoea* sp., *Pseudomonas* sp. pada media NA dan herbisida bahan aktif *Glifosat* dengan 6 perlakuan yaitu 0 ml/l NA sebagai kontrol, 3,5 ml/l NA sebagai P1, 4 ml/l NA sebagai P2, 5,5 ml/l NA sebagai P3, 6 ml/l NA sebagai P4 dan 6,5 ml/l NA sebagai P5, dan didapatkan hasil bahwa bakteri tersebut mampu tumbuh pada 48 jam pengamatan.

SUMMARY

NURUL ARIANI. 145040201111236. Rhizosphere Bacteria Abundance in Polyculture of Coffee and Pine with the Use of Herbicides and Without Herbicides in UB Forest. Supervised by Prof. Dr. Ir. Abdul Latief Abadi, M.S. and Restu Rizkyta Kusuma, S.P., M.Sc.

Rizosphere is part of the soil around the roots of plants that usually contain microorganisms, including bacteria that can improve soil efficiency. In the UB Forest contains a lot of coffee plants which are cultivated polyculture with pine, but there are a number of lands that use 42% glyphosate-active herbicide. The provision of herbicides is carried out to control the weeds that exist today in a way that can affect microorganisms in the rhizosphere, one of which is bacteria. This study aims to determine the abundance of rhizosphere bacteria on land without herbicides and land that uses herbicides on coffee and pine polyculture plants in UB Forest.

This research was conducted at the Microbiology Laboratory of UIN Maulana Malik Ibrahim Malang and the Laboratory of Plant Diseases, Department of Plant Pests and Diseases, Faculty of Agriculture, University of Brawijaya for 4 months from February 2018 - June 2018. The research stages were taking rhizosphere samples of coffee and pine polyculture plants, isolation of bacteria by dilution plate method, abundance calculation, hypersensitive test, physiological and biochemical identification of bacteria, and also on NA media added with herbicides with 5 different concentrations.

The results of isolation of bacteria obtained 28 isolates on the land with herbicides and 12 isolates on land without herbicides that had different koloi and morphological forms. From isolates obtained up to the genus level in isolates and have been at the genus level to bacteria such as *Erwinia* sp., *Pantoea* sp., *Pseudomonas* sp., *Xanthomonas* sp., *Bacillus* sp., and *Clostridium* sp. In physiological cycles with tobacco plants, these isolates can have potential as pathogens and non-pathogens to plants and besides that the potential produced by these bacteria include antagonists. From the results of the identification, testing of the dominant bacterial isolates was *Erwinia* sp., *Pantoea* sp., *Pseudomonas* sp. on NA and herbicide glyphosate active media with 6 treatments, 0 ml/l as control, NA, 3.5 ml/l NA as P1, 4 ml/l NA as P2, 5.5 ml/l NA as P3, 6 ml/l NA as P4 and 6.5 ml/l NA as P5, and obtained results that the bacteria were able to grow at 48 hours of observation.

DAFTAR ISI

RINGKASAN	i
SUMMARY	ii
RIWAYAT HIDUP	ii
KATA PENGANTAR	iiiv
DAFTAR ISI	v
DAFTAR GAMBAR	vii
DAFTAR TABEL	iiix
1. PENDAHULUAN	1
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Rumusan Masalah	2
1.3 Tujuan	2
1.4 Hipotesis	2
1.5 Manfaat	3
II. TINJAUAN PUSTAKA	4
2.1 Mikroorganisme Tanah	4
2.2 Bakteri	5
2.2.1 Struktur Bakteri	5
2.2.2 Morfologi Bakteri	5
2.2.3 Pertumbuhan dan Reproduksi Bakteri	7
2.2.5 Peran Bakteri Tanah	9
2.3 Rizosfer	10
2.4 Herbisida	10
III. METODE PENELITIAN	12
3.1. Tempat dan Waktu Penelitian	12
3.2. Alat dan Bahan Penelitian	12
3.3. Metode Penelitian	12
3.4. Persiapan Penelitian	13
3.4.1. Survei	13
3.4.2. Sterilisasi alat dan bahan	13
3.5. Pelaksanaan Penelitian	13
3.5.1. Pengambilan sampel tanah	13
3.5.2. Uji laboratorium bakteri tanah	13

3.5.3. Pengujian Herbisida.....	13
3.6 Variabel Pengamatan	18
3.6.1 Kelimpahan Bakteri	18
3.6.2 Analisa Kelimpahan Bakteri	18
IV. HASIL DAN PEMBAHASAN.....	19
4.1 Kondisi Aktual Lahan	19
4.2 Isolasi Bakteri dari Rizosfer Tanaman Kopi dan Pinus	21
4.4 Kelimpahan Bakteri.....	21
4.5 Identifikasi Bakteri.....	22
4.5.1 Karakteristik Morfologi	22
4.5.2 Karakteristik Fisiologi dan Biokimia	24
4.6 Hasil Identifikasi Genus Bakteri	31
4.7 Potensi Bakteri pada Lahan Herbisida dan Tanpa Herbisida	33
4.8 Pengujian Bakteri dengan Herbisida	35
V. PENUTUP	38
5.1 Kesimpulan.....	38
5.2 Saran.....	38
DAFTAR PUSTAKA.....	39
LAMPIRAN	43

1. PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Tanah mengandung berbagai jenis mikroorganisme termasuk bakteri yang dapat hidup di lingkungan alam (Gowsalya *et al.*, 2014). Salah satu bagian dari tanah yaitu rizosfer. Rizosfer merupakan bagian dari tanah yang terdapat di sekitar perakaran tanaman (Simatupang, 2008). Mikroorganisme tanah terutama yang terdapat pada rizosfer dapat meningkatkan kualitas biologi tanah. Populasi mikroorganisme yang berada di sekitar rizosfer biasanya mempunyai jumlah yang lebih beragam dan banyak di bandingkan tanah yang bukan rizosfer, aktivitas mikroorganisme yang berada di daerah rizosfer dipengaruhi eksudat yang dihasilkan perakaran tanaman disekitarnya, selain itu mikroorganisme rizosfer mempunyai peran dalam siklus hara dan proses pembentukan tanah, pertumbuhan tanaman dan sebagai pengendali patogen akar (Prayudyaningsih, 2015). Mikroorganisme pada rizosfer dapat mempengaruhi pertumbuhan tanaman di sekitarnya, baik menguntungkan atau dapat menjadi patogen pada tanaman tersebut. Salah satu jenis mikroorganisme tersebut adalah bakteri. Jenis genus bakteri yang dapat ditemukan pada daerah rizosfer diantaranya yaitu *Pseudomonas*, *Azotobacter*, *Agrobacterium*, *Cellulomonas*, *Micrococcus*, *Bacillus* dan *Flavobacter* (Mukamto, 2015).

Pada tanah yang jarang dilakukan pengolahan dan tanpa penambahan bahan kimia akan mempengaruhi kondisi mikroorganisme yang berada di dalamnya, begitupun juga pada tanah yang dilakukan pengolahan dan pemberian bahan kimia secara intensif akan mempengaruhi mikroorganisme yang hidup di dalamnya terutama jenis bakteri. Salah satu penyebab yang mempengaruhi pertumbuhan bakteri tanah yaitu bahan kimia yang berasal dari pestisida. Jenis mikroflaura seperti bakteri dan fungi dapat menempati bagian struktur tanah yang paling kecil sehingga dapat memiliki interaksi secara langsung dengan residu pestisida yang masuk ke dalam tanah (Sulistinah, 2011). mikroorganisme tanah terhadap pestisida mempunyai respon yang berbeda. Beberapa kelompok mikroba tertentu memiliki respon positif terhadap kehadiran pestisida karena dapat memanfaatkannya sebagai sumber karbon, namun beberapa kelompok lainnya tidak dapat hidup dan berkembang dan bahkan mungkin dalam kurun waktu yang lama akan terancam oleh keberadaan pestisida yang akhirnya menjadi punah dari lingkungan sekitar (Das *et al.*, 2005).

Jenis pestisida yang digunakan salah satunya yaitu herbisida untuk mengendalikan gulma yang terdapat di sekitar tanaman kopi. Bahan aktif herbisida yang digunakan salah satunya adalah *Glifosat*. *Glifosat* merupakan herbisida yang mempunyai spektrum pengendali yang luas dan bersifat tidak selektif, *Glifosat* digunakan untuk mengendalikan tanaman tahunan, berdaun lebar dan dapat digunakan pada saat pra-tumbuh tanaman (Emalinda, 2003). Herbisida diserap oleh akar gulma dari dalam tanah sehingga dapat membunuh gulma tersebut, herbisida dapat membunuh gulma melalui mekanisme umum pada daun atau melalui mekanisme umum setelah ditranslokasikan ke seluruh tubuh tanaman (Sastrahidayat, 2015). Pemberian herbisida yang intensif untuk mengendalikan gulma dapat menyebabkan terakumulasinya residu bahan kimia di dalam tanah sehingga menyebabkan pencemaran lingkungan dan dapat membahayakan proses biologi dalam tanah dan bagi organisme yang berada di dalamnya (Widowati, 2017). Sehingga penggunaan herbisida dengan konsentrasi dan dosis tertentu sangat dianjurkan, penggunaan herbisida dengan pemakaian yang intensif dapat merugikan terhadap aktivitas-aktivitas mikroba tanah serta kandungan biomasanya, dapat menghambat dan membunuh pertumbuhan mikroba tanah sehingga peranannya dalam mendaur ulang unsur hara menjadi hilang (Emalinda, 2003).

1.2 Rumusan Masalah

Rumusan masalah yang diajukan dalam penelitian ini adalah bagaimana kelimpahan bakteri rizosfer pada lahan budidaya tanpa menggunakan herbisida dan lahan budidaya dengan menggunakan herbisida bahan aktif *Glifosat* 42% dan pengaruh herbisida bahan aktif *Glifosat* 42% terhadap jenis bakteri rizosfer yang di temukan.

1.3 Tujuan

Tujuan dalam pelaksanaan penelitian ini diantaranya adalah:

1. Mengetahui kelimpahan bakteri rizosfer di lahan polikultur kopi dan pinus yang menggunakan herbisida dan tanpa menggunakan herbisida bahan aktif *Glifosat* 42%.
2. Melakukan uji herbisida bahan aktif *Glifosat* 42% untuk mengetahui bagaimana pengaruhnya terhadap bakteri patogen dan non patogen.

1.4 Hipotesis

Hipotesis pada penelitian ini adalah:

1. Kelimpahan bakteri rizosfer pada lahan dengan budidaya menggunakan herbisida dengan bahan aktif *Glifosat* 42% lebih rendah dibandingkan lahan budidaya tanpa herbisida.
2. Penggunaan herbisida berbahan aktif *Glifosat* 42% dapat mempengaruhi bakteri yang berpotensi sebagai patogen dengan bakteri non patogen.

1.5 Manfaat

Manfaat dari penelitian diantaranya yaitu:

1. Untuk memberikan informasi mengenai kelimpahan bakteri tanah pada lahan polikultur kopi dan pinus yang menggunakan herbisida dan tanpa menggunakan herbisida dan pengaruh herbisida berbahan aktif *Glifosat* 42% terhadap bakteri yang ditemukan.
2. Untuk dapat dikembangkan dalam penelitian selanjutnya dalam penerapannya pada bidang pertanian terutama mikroorganisme yang bermanfaat.



II. TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Mikroorganisme Tanah

Tanah mempunyai berbagai populasi dan habitat dalam tanah dan akan membentuk populasi yang berbeda. Biasanya mikroorganisme tanah berada di lapisan seresah organik atau lapisan permukaan tanah dan bagian tanah yang lebih dalam. Mikroorganisme dalam tanah akan dipengaruhi oleh tinggi atau rendahnya bahan organik, hal ini juga mempengaruhi aktivitas metabolik mikroorganisme tanah. Dekomposisi bahan organik akan lebih cepat terjadi jika dipengaruhi oleh meningkatnya kegiatan organisme tanah (Nurmegawati, 2014).

Mikroorganisme merupakan organisme yang mempunyai ukuran yang sangat kecil sehingga tidak dapat dilihat dengan mata telanjang. Mikroorganisme dapat juga disebut dengan mikroba atau jasad renik (Marianah, 2015). Tanah yang tergolong subur seperti di hutan alami memiliki lebih dari 100 juta mikroorganisme per gram tanah, produktivitas dan daya dukung tanah akan dipengaruhi oleh aktivitas mikroorganisme yang berada di dalam tanah (Marianah, 2015). Organisme tanah mempunyai peran penting dalam mempercepat penyediaan hara dan sebagai sumber bahan organik tanah, setiap spesies mikroorganisme yang ada pada tanah ini mempunyai fungsi yang sangat beragam, diantaranya yaitu sebagai penyubur pada tanah dan sering digunakan dalam bidang pertanian. Mikroorganisme tanah dapat dipengaruhi oleh beberapa faktor yang dapat mempengaruhi aktivitasnya dalam tanah, faktor tersebut diantaranya adalah suhu, tekanan osmotik, tegangan permukaan, fenomena adsorpsi, air, pH, Nutrien atau hara, selain sifat fisik dan kimia tanah faktor biologi juga mempengaruhi pertumbuhan mikroorganisme seperti interaksi antara mikroorganisme dan pengaruh tumbuhan tingkat tinggi (Marianah, 2015). Interaksi yang ada pada mikroorganisme yaitu meliputi netralisme, kompetisi, mutualisme, komensalisme, antagonisme, sinergisme, parasitisme. Sedangkan untuk pengaruh tumbuhan tingkat tinggi meliputi lingkungan hidup di daerah sistem akar yang disebut rhizosfer (Marianah, 2015). Distribusi mikroorganisme dalam suatu horizon pada suatu profil tanah dapat dilihat pada tabel berikut.

Tabel 1. Distribusi mikroorganisme dalam horizon dari suatu profil tanah (Marianah, 2015)

Kedalaman (cm)	Organisme/gr tanah x 10 ³				
	Bakteri aerob	Bakteri anaerob	Actinomycetes	Fungi	Algae
3-8	7.800	1.950	2.080	119	25
20-25	1.800	379	245	50	5
35-40	472	98	49	14	0,5
65-75	10	1	5	6	0,1
135-145	1	0,4	-	3	-

2.2 Bakteri

Bakteri merupakan organisme yang mempunyai jumlah yang paling banyak dan tersebar luas dibandingkan makhluk hidup yang lain. Bakteri mempunyai ratusan ribu spesies yang hidup di gurun pasir, lautan, salju atau es, tanaman, tanah dan yang lainnya. Bagi manusia dan tanaman terdapat bakteri yang menguntungkan dan merugikan, bakteri juga mempunyai ciri-ciri yang membedakannya dengan makhluk hidup yang lain. Bakteri merupakan organisme uniseluler, prokariot, dan biasanya tidak mempunyai klorofil (Aryulina, 2004).

2.2.1 Struktur Bakteri

Bakteri mempunyai struktur yang terdiri dari kapsul, dinding sel, membran sel, sitoplasma, bulu cambuk, materi genetik, ribosom dan plasmid. Kapsul pada bakteri merupakan selubung pelindung bakteri yang tersusun dari polisakarida. Dinding sel bakteri tersusun atas protein yang berikatan dengan polisakarida (peptidoglikan). Pada membran sel tersusun atas molekul lemak dan protein (fosfolipid). Sitoplasma pada bakteri merupakan cairan yang terdapat di dalam sel bakteri. Bulu cambuk atau flagel merupakan alat gerak yang ada bakteri yang dapat membantu bakteri untuk mendekati dan menjauhi jika terdapat racun atau bahan kimia. Materi genetik pada bakteri adalah DNA dan ribosom berfungsi untuk sintesis protein sedangkan struktur yang terakhir yaitu plasmid yang mengandung gen-gen tertentu (Setiowati, 2007).

2.2.2 Morfologi Bakteri

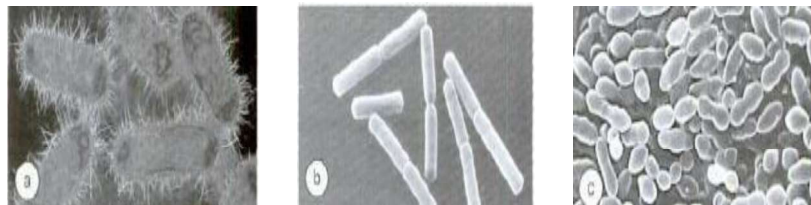
a. Ukuran

Satuan ukuran bakteri ialah mikrometer (μm), yang setara dengan 1/1000 mm atau 10⁻³ mm. Bakteri yang paling umum dipelajari berukuran kira-kira 0,5–

1,0 x 2,0–5,0 μm . sel bakteri yang khas berdiameter 0,5 sampai 1,5 μm dan panjangnya 1,0 sampai 3,0 μm . Sel beberapa spesies bakteri amat panjang panjangnya dapat melebihi 100 μm dan diameternya berkisar dari 0,1 sampai 0,2 μm . Sekelompok bakteri yang dikenal dengan mikoplasma, ukurannya amat kecil yaitu hanya berukuran 0,001 μm sehingga hampir tidak tampak di bawah mikroskop cahaya. Bakteri juga termasuk pleomorfik yaitu morfologinya amat beragam (Gandjar, 2006). Satu volume sebanyak 1 cm^3 mengandung sekitar setengah triliun bakteri berbentuk batang berukuran rata-rata. Jika di jumlahkan akan menunjukkan bahwa kira kira 1 triliun bakteri mempunyai berat hanya 1 g, nilai ini sangat tinggi dibandingkan dengan mikroorganisme yang lebih besar (Widawati, 2006). Ciri khusus sel bakteri akan diketahui bila perbandingan antara luas permukaan terhadap volumenya dihitung. Hal ini berarti bahwa isi suatu sel bakteri menjadi terbuka terhadap batas permukaan antara dinding sel dan nutrisi di sekitarnya. Sifat inilah yang merupakan salah satu penyebab tingginya laju metabolisme dan pertumbuhan bakteri. Satu gram tanah lapisan atas yang subur dapat mengandung lebih dari 1 milyar bakteri. Para peneliti memperkirakan bahwa bobot hidup bakteri setiap hektar mungkin melebihi 2000 kilogram per hektar (Gandjar, 2006).

b. Bentuk

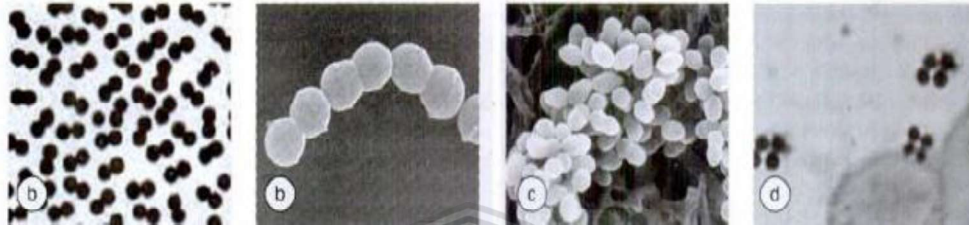
Berdasarkan bentuknya, bakteri di bagi menjadi tiga bentuk dasar yaitu bulat, batang dan spiral. Ketiga jenis bakteri mempunyai modifikasi yang berbentuk lain (Setiowati, 2007). Bakteri berbentuk batang dikenal sebagai basil. Bentuk basil diantaranya adalah basil tunggal adalah bakteri yang hanya mempunyai bentuk satu batang tunggal, diplobasil merupakan bakteri berbentuk batang yang bergandengan dua-dua sedangkan streptobasil merupakan bakteri berbentuk batang yang bergandengan membentuk rantai (Setiowati, 2007).



Gambar 1. Variasi bakteri basil (a) basil tunggal (www.astroswf.com), (b) diplobasil (www.foodnesu.ch) , (c) streptobasil (<http://aux.isifa.com>)

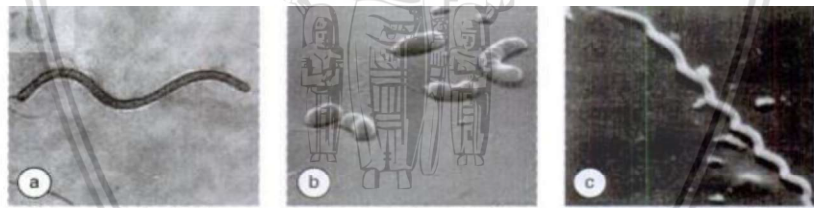
Bakteri berbentuk bulat (kokus) dapat terbagi menjadi beberapa macam yaitu monokokus yang merupakan bakteri tunggal, diplokokus adalah bakteri

berbentuk bulat yang bergandengan dua-dua, streptokokus merupakan bakteri berbentuk bulat yang berkelompok membentuk rantai, stafilokokus merupakan bakteri berbentuk bulat yang berkelompok membentuk seperti anggur dan yang terakhir adalah sarkina merupakan bakteri berbentuk bulat yang berkelompok empat-empat membentuk seperti kubus (Setiowati, 2007).



Gambar 2. Variasi bakteri kokus (a) diplokokus (www.classroomclipart.com), (b) streptokokus (<http://ard.uni.edu>), (c) stafilokokus (www.pereplet.ru), (d) sarkina (www.microbes-edu.org).

Bakteri berbentuk spiral atau spirillum, terutama dijumpai sebagai individu-individu sel yang tidak saling melekat. Bakteri yang berbentuk spiral dibedakan menjadi beberapa bagian yaitu spiral yang merupakan bakteri berbentuk seperti spiral, vibrio merupakan bakteri berbentuk seperti tanda baca koma dan spiroseta merupakan bakteri berbentuk seperti spiral yang bergerak melengkung (Setiowati, 2007).



Gambar 3. Variasi bakteri spiral (a) spiral (www.visualsunlimited.com) (b) vibrio (www.cs.dartmouth.edu) (c) spiroseta (www.uhavax.hartford.edu).

2.2.3 Pertumbuhan dan Reproduksi Bakteri

Sebagian besar bakteri berkembang biak melalui pembelahan biner (aseksual) dimana dari satu sel membelah menjadi dua sel yang identik. Beberapa bakteri dapat membentuk struktur reproduktif yang lebih kompleks yang memfasilitasi penguraian dua sel yang baru terbentuk. Beberapa membelah setiap 20 menit dan mungkin memperbanyak diri dengan sangat cepat dalam keadaan yang menguntungkan. Pertumbuhan sel-sel bakteri dapat dihitung berdasarkan pertumbuhan koloni bakteri. Hubungan antara jumlah sel bakteri dengan waktu pertumbuhan bakteri dapat dinyatakan dalam kurva pertumbuhan bakteri. Kurva tersebut terbagi dalam beberapa fase, yaitu 1) Fase lag

merupakan masa adaptasi bakteri terhadap lingkungannya yang baru sehingga pertumbuhannya belum maksimal. 2) Fase *log* (fase *logaritmik*), merupakan masa pertumbuhan bakteri mencapai maksimum. 3) Fase *stasioner*, merupakan masa pertumbuhan bakteri yang mulai menurun dan diakhiri fase kematian. 4) Fase penurunan yang ditandai dengan meningkatnya kematian sel-sel bakteri hingga sel-sel bakteri berhenti memperbanyak diri (Setiowati, 2007).

2.2.4 Bakteri Tanah

Bakteri yang hidup di dalam tanah mempunyai karakteristik diantaranya adalah mampu membentuk spora, berbentuk batang, kokus dan vibrio. Beberapa contoh bakteri tanah yaitu *Clostridium pasteurianum* merupakan bakteri yang memfiksasi nitrogen dalam keadaan anaerob, *Azotobacter chroococum* merupakan bakteri yang mengikat nitrogen dalam keadaan aerob, *Bacillus* merupakan bakteri pengikat nitrogen, membentuk spora, pH 2,8, temperature -5 sampai 75°C dan *Pseudomonas* yang sebagian 3-15% mempunyai sifat patogen (Lestari, 2017). Berdasarkan sifat fisiologisnya bakteri dalam tanah dapat dikelompokkan menjadi 2 bagian yaitu:

- a. Bakteri autotrof, karakteristik bakteri autotrof adalah bakteri yang tidak berkhlorofil, mampu membentuk senyawa karbon, protein dan lemak tanpa bantuan sinar matahari, bakteri autotrof memperoleh karbon dioksida dari bahan anorganik atau senyawa organik lainnya. bakteri autotrof mempunyai beberapa sifat-sifat fisiologis yaitu media yang mengandung mineral merupakan media yang efektif untuk pertumbuhan dan perkembangannya, keberadaan bakteri autotrof sangat erat hubungannya dengan ketersediaan unsur-unsur anorganik atau senyawa-senyawa sederhana, dalam melakukan sintesis sel atau sebagai sumber energi bakteri autotrof tidak memerlukan nutrisi, bakteri autotrof tidak mampu membusukkan bahan-bahan organik, karbon dioksida digunakan sebagai sumber karbon yang kemudian diasimilasi secara kemosintesis. Bakteri autotrof sangat penting terhadap adanya proses nitrifikasi. Proses nitrifikasi sangat berperan dalam penguraian kompos (Lestari, 2017).
- b. Bakteri heterotrof, sumber energi bakteri heterotrof adalah sumber karbon dari senyawa-senyawa organik bakteri heterotrofik. Bakteri tersebut sangat berperan dalam dekomposisi selulosa, hemiselulosa, zat-zat tepung, protein dan yang lainnya. Bakteri heterotrof secara umum terdiri dari bakteri memfiksasi nitrogen baik secara non simbiotik maupun

simbiotik, misalnya adalah *Radiobacter*, *Aerobacter* dan bakteri yang memerlukan nitrogen gabungan misalnya bakteri aerobik dan bakteri anaerobik. Bakteri aerobik baik yang berspora maupun tidak berspora dan gram positif maupun negatif. Contoh bakteri berspora adalah *Bacillus mycoides* yang mempunyai karakteristik pada medium lempeng menunjukkan koloni besar berfilamen sampai rhizoid. Sedangkan pada *Bacillus megaterium* mempunyai koloni dengan susunan butiran putih buram yang dikelilingi zona cairan gelatin yang bersih. Beberapa bakteri yang tidak berspora bersifat aerob, motil dan non motil, koloninya berbentuk functiform pada agar dan gelatin. Bakteri-bakteri tanah tertentu termasuk bakteri termofil mampu berkembangbiak pada temperatur 50°C sampai 72°C. Bahkan bakteri yang terdapat dalam pupuk kandang mampu berkembangbiak pada suhu 79.5°C, contoh bakteri tersebut adalah *Thermomyces* dan *Thermoactinomyces* (Lestari, 2017).

2.2.5 Peran Bakteri Tanah

Bakteri mempunyai beberapa peranan yaitu sebagai pengendali hayati, bakteri antagonis merupakan mikroba yang mempunyai peranan menguntungkan sebagai pengendali hayati. Beberapa bakteri yang digunakan sebagai pengendali hayati di antaranya adalah genus *Bacilus* dan *Pseudomonas*. Beberapa kelompok bakteri jenis *Pseudomonas* yang biasanya digunakan sebagai pengendali hayati yaitu *Pseudomonas flourecens*, *Pseudomonas putida* dan *Pseudomonas capasia*. Selain sebagai pengendali hayati, beberapa jenis bakteri yang telah terbukti untuk mengendalikan patogen tumbuhan juga dikembangkan dalam industry bio pestisida yang mempunyai variasi dengan nama perdagangan yang telah dipatenkan (Sastrahidayat, 2014).

Bakteri juga dapat berperan dalam fiksasi nitrogen, pemanfaatan bakteri fiksasi N₂ baik yang diaplikasikan melalui tanah maupun disemprotkan pada tanaman akan dapat meningkatkan efisiensi pemupukan N hal ini akan mendukung upaya pencapaian pertanian yang ramah lingkungan dan berkelanjutan, penggunaan bakteri fiksasi N₂ berpotensi dalam mengurangi kebutuhan pupuk N sintesis, meningkatkan produksi dan pendapatan usahatani dengan masukan yang lebih murah (Saraswati, 2008). Bakteri tanah juga dapat berperan untuk pelarut fosfat, alternatif untuk meningkatkan efisiensi pemupukan P untuk mengatasi endahnya P yang tersedia atau kejenuhan P di dalam tanah yaitu dengan memanfaatkan mikroorganisme pelarut P sebagai pupuk hayati.

Bakteri pelarut P dapat melarutkan P yang sukar larut menjadi larut baik yang berasal dari dalam tanah maupun dari pupuk sehingga akan diserap tanaman (Saraswati, 2008).

2.3 Rizosfer

Rizosfer adalah zona lingkungan mikro yang berada disekitar perakaran tanaman, biasanya diartikan atau dibatasi sebagai material atau bahan-bahan berukuran makro dan mikroorganisme yang masih menempel pada akar tanaman yang luas daerahnya masih mencakup oleh aktivitas perakaran tanaman beserta mikroorganisme yang berasosiasi dengannya (Lumbanraja, 2013). Populasi mikroorganisme di rizosfer biasanya lebih banyak dan beragam dibandingkan pada bagian tanah lain (Carlile, 2001). Beberapa mikroorganisme rizosfer berperan penting dalam siklus hara dan proses pembentukan tanah, pertumbuhan tanaman, mempengaruhi aktivitas mikroorganisme serta sebagai pengendali hayati terhadap patogen akar. Kehadiran sejumlah populasi organisme baik yang bersifat antagonis, patogen, maupun saprofit dapat menambah keragaman spesies di dalam komunitas alami tanaman (Jeger, 2001).

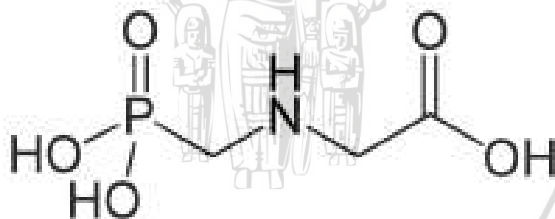
Berdasarkan bibliografinya, rizosfer dicirikan dengan aktivitas biologinya yang paling tinggi pada tanah (Patkowska 2002). Hubungan antara organisme dan akar dapat menguntungkan, merusak, atau netral tetapi seiring pengaruhnya tergantung pada kondisi tanah. Secara alami tanah memiliki potensi mikroorganisme yang mampu menekan perkembangan patogen dalam tanah. Sebagian besar mikroorganisme antagonis tersebut hidup sebagai saprofit. Kemampuan organisme dalam beradaptasi terhadap berbagai keadaan lingkungan merupakan potensi besar untuk digunakan sebagai agen pengendali hayati (Baker, 1974).

2.4 Herbisida

Herbisida merupakan bahan kimia yang biasanya digunakan untuk mengendalikan gulma yang di dalamnya termasuk rumput liar dan dapat menghambat pertumbuhan tanaman liar yang mengganggu pertumbuhan tanaman budidaya yang utama (Widowati, 2017). Penggunaan herbisida yang berlebihan akan menyebabkan terakumulasi bahan kimia dalam tanah sehingga dapat mengakibatkan tercemarnya lingkungan dan dapat mengganggu organisme yang berda di dalam tanah. Herbisida berasal dari senyawa metabolit hasil ekstraksi dari suatu organisme dan bersifat racun terhadap gulma

yang menjadi tumbuhan pengganggu. Herbisida yang sering digunakan petani kopi di lahan pendidikan UB *Forest* yaitu herbisida yang berbahan aktif *Glifosat*. Herbisida berbahan aktif *Glifosat* merupakan salah satu bahan aktif herbisida dengan nama kimia N-fosfonometil glisina dengan rumus molekul $C_3H_8NO_5P$ adalah salah satu bahan aktif herbisida golongan organofosfor, yang diproduksi oleh Monsanto Co.USA tahun 1971. Herbisida *Glifosat* mempunyai bentuk fisik berupa bubuk berwarna putih, mempunyai bobot jenis (BJ) $0,5 \text{ g/cm}^3$ dan kemampuan larut dalam air 1,2% (Wardoyo, 2001).

Penggunaan herbisida bahan aktif *Glifosat* terus meningkat sejak terdapat program budi daya pertanian oleh tanah konservasi (OTK) di lahan kering pada tahun 1987, hal tersebut sejalan dengan produksi pangan, serat dan bahan mentah hasil pertanian lainnya. Distribusi *Glifosat* di dalam tanah sangat ditentukan oleh kadar liat dalam kemampuannya berinteraksi dengan *Glifosat* maupun daya menahan dan menginfiltrasi air hujan, residu *Glifosat* dalam tanah pada dua lapisan teratas semakin meningkat dengan meningkatnya dosis *Glifosat*. Dinamika naik dan turunnya residu *Glifosat* dalam tanah berkaitan erat dengan distribusi hujan yang tidak merata dan tingginya air infiltrasi ke dalam tanah (Wardoyo, 2001).



Gambar 4. Struktur kimia N-(phosphonomethyl)glycine (Kegley, 2010).

III. METODE PENELITIAN

3.1. Tempat dan Waktu Penelitian

Penelitian dilaksanakan dengan mengambil sampel tanah pada lahan polikultur kopi dan pinus UB Forest. Isolasi, purifikasi, dan uji pestisida dilakukan di Laboratorium Mikrobiologi Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang dan di Laboratorium Penyakit Tumbuhan Fakultas Pertanian Universitas Brawijaya. Penelitian dimulai pada bulan Februari hingga bulan Juni 2018.

3.2. Alat dan Bahan Penelitian

Alat yang digunakan dalam pengambilan sampel tanah antara lain: cetok, kantong plastik, dan spidol permanen. Alat yang digunakan dalam isolasi, purifikasi, dan identifikasi bakteri antara lain *Handsprayer* ukuran 75 ml, cawan petri diameter 9 cm, tabung reaksi, *stick* L, jarum ose, tube ukuran 2 ml, gelas ukur 50 ml, tabung *Erlenmeyer* ukuran 250 ml, *Beaker Glass* ukuran 500 ml, botol media (schott) ukuran 500 ml dan 1000 ml, batang pengaduk, jarum suntik, *Object Glass*, *Cover Glass*, *micropipette* ukuran 100 μ m, bunsen, korek api, *Autoclave*, *Laminar Air Flow Cabinet* (LAFC), oven, pipet tetes, kertas label, timbangan analitik, mikroskop *Compound* perbesaran 400 x (40 x 10).

Bahan yang digunakan dalam penelitian antara lain sampel tanah lahan polikultur kopi dan pinus yang diaplikasikan herbisida dan tanpa herbisida, alcohol 70% dan 95%, aquades steril, media *Nutrient Agar* (NA), *Aluminium Foil*, plastik *Wrapping*, kapas, *Tissue*, larutan kristal violet, larutan safranin, larutan iodine, larutan KOH 3%, larutan H_2O_2 , Media YDC, Parafin, tanaman tembakau dan spirtus yang didapatkan dari toko kimia.

3.3. Metode Penelitian

Penelitian menggunakan metode survei, eksplorasi, komparasi. Survei dilakukan untuk mendapatkan informasi terkait kondisi lahan berupa wawancara tentang penelusuran budidaya dengan petani setempat. Eksplorasi dilakukan dengan cara mengambil sampel tanah untuk isolasi, purifikasi bakteri tanah analisa laboratorium meliputi identifikasi bakteri tanah dan analisa uji herbisida. Komparasi untuk membandingkan hasil survei dan eksplorasi bakteri tanah yang didapat dari dua lahan tersebut dan yang terakhir adalah analisis data yang di dapatkan.

3.4. Persiapan Penelitian

3.4.1. Survei

Survei dilakukan di lahan polikultur kopi dan pinus dengan penggunaan herbisida dan tanpa herbisida melalui wawancara petani setempat dengan menyiapkan kuisioner serta pengamatan secara langsung di kedua lahan tersebut.

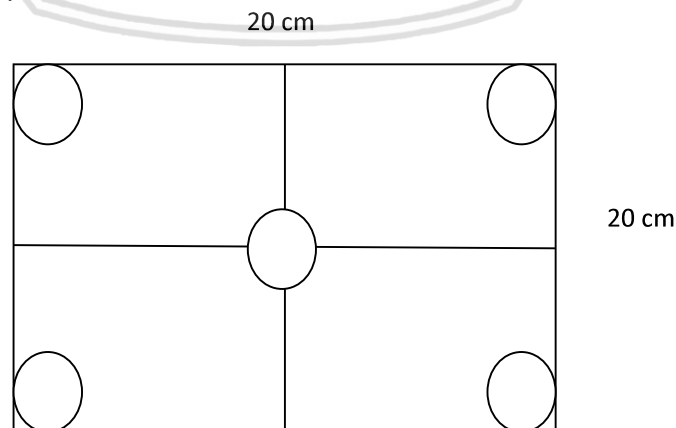
3.4.2. Sterilisasi alat dan bahan

Menyiapkan semua alat dan bahan yang dibutuhkan untuk eksplorasi antara lain isolasi, purifikasi, identifikasi bakteri tanah, pengamatan penyakit, analisa tanah, dan analisa herbisida. bahan pengujian antara lain aquades dan tisu serta alat berbahan *Glassware* terlebih dahulu disterilisasi menggunakan *Autoclave* selama 20 menit dengan suhu 121 °C.

3.5. Pelaksanaan Penelitian

3.5.1. Pengambilan sampel tanah

Pengambilan sampel tanah pada masing-masing lahan dilakukan satu kali untuk isolasi bakteri tanah dengan 3 kali ulangan pada setiap lahan. Sampel tanah diambil menggunakan cetok dari permukaan hingga kedalaman kurang lebih 15 cm-20 cm dengan jarak 10 cm dari tanaman utama yaitu kopi. pengambilan sampel tanah menggunakan metode diagonal yaitu pada setiap lahan diambil 5 titik sampel yang kemudian dikompositkan dan dimasukkan ke dalam kantong plastik berukuran 0,5 kg dan diberi label sesuai dengan tanah yang diambil. Untuk pembuatan plot dilakukan dengan cara membuat plot berukuran 20 x 20 m = 400 m² pada setiap penggunaan lahan. Kemudian dibagi kedalam 4 kuadran sebagai sub plot supaya memudahkan dalam penentuan titik pengambilan sampel tanah.



Gambar 5. Skema pengambilan sampel tanah

3.5.2 Uji Laboratorium Bakteri Tanah

1. Isolasi Bakteri dari Sampel Tanah

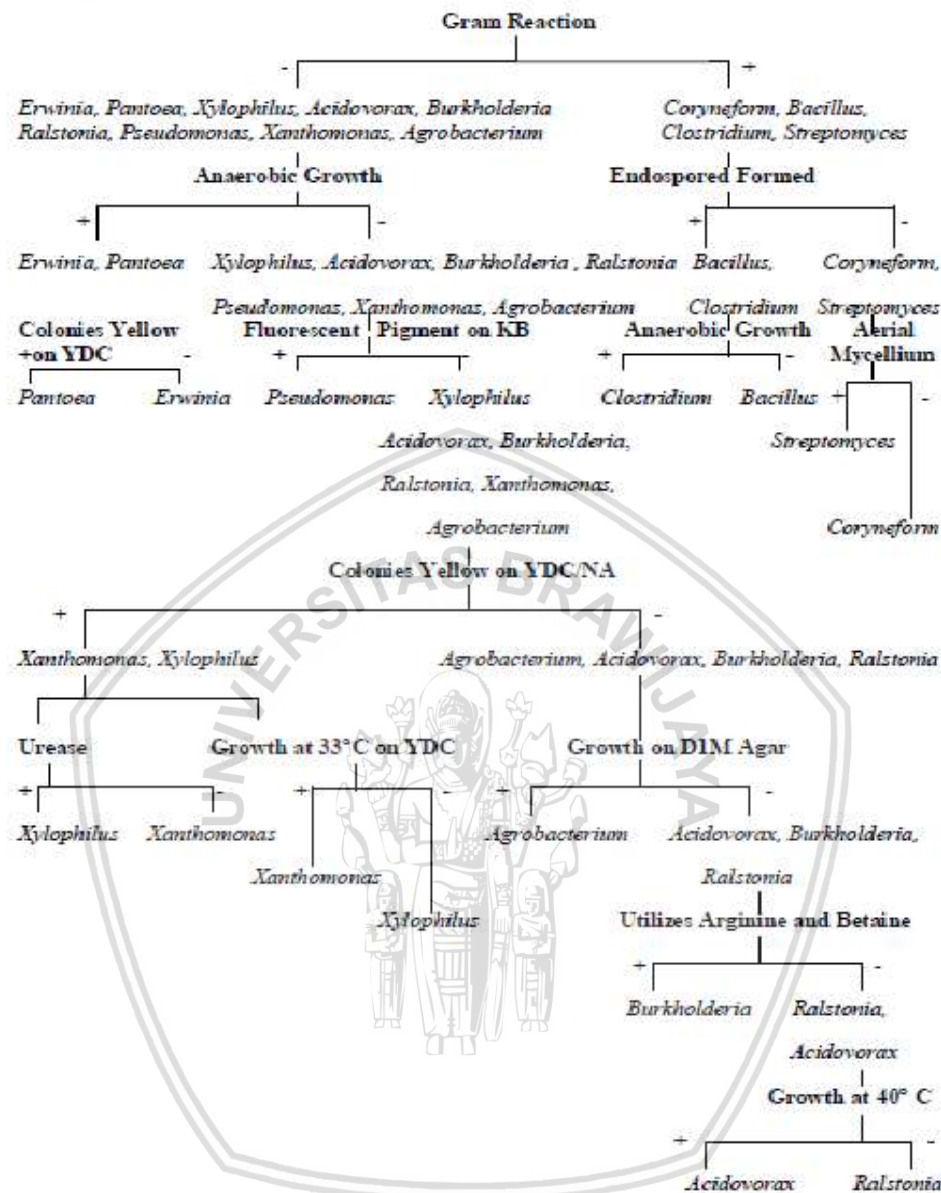
Isolasi bakteri tanah dengan metode *Dillusion plate* atau metode pengenceran bertingkat dengan cara mengambil sampel tanah pada masing-masing lahan. Tanah ditimbang sebanyak 1 gram kemudian diletakkan pada tabung reaksi dengan menambahkan aquades steril hingga mencapai 10 ml. Tanah dan aquades dicampur dan dikocok hingga homogen. Suspensi yang didapat diambil 1 ml dan dimasukkan ke dalam tabung reaksi dengan menambahkan aquades steril 9 ml dan diencerkan hingga mencapai tingkat pengenceran 10^{-9} cfu per gram. Pengambilan tingkat pengenceran 10^{-9} cfu per gram dikarenakan bakteri pada tingkat pengenceran tersebut dapat tumbuh dengan baik dan tidak berdekatan. Hasil pengenceran diambil 1 ml dituang ke dalam cawan petri yang berisi media NA padat dengan diratakan menggunakan *Stick L* dan cawan petri direkatkan menggunakan plastik *Wrapping* dan diinkubasi pada suhu ruang 27-28 °C selama 2-3 hari.

2. Purifikasi

Purifikasi atau pemurnian dilakukan pada setiap bakteri yang dianggap berbeda berdasarkan morfologi bakteri dalam cawan petri yang meliputi warna dan bentuk koloni bakteri yang ditemukan dengan menggunakan jarum ose. Bakteri yang terambil diletakkan di cawan petri berisi media NA. purifikasi dilakukan dalam LAFC (*Laminar Air Flow Cabinet*) untuk mencegah kontaminasi dari mikroorganisme lain. Hasil isolasi diinkubasi pada suhu ruang 27-28 °C dan dilakukan pengamatan pada koloni.

3. Identifikasi

Identifikasi bakteri dilakukan sampai tingkat genus dengan pedoman Schaad *et al.* (2001) dan *Bergey's Manual of Determinative Bacteriology* (Holt, 1994) yang terdiri dari uji gram, uji oksidatif-fermentatif, uji KOH 3%, uji katalase, uji hipersensitif dan menumbuhkan pada media selektif YDC dan Pengamatan secara makroskopis dengan mengamati kenampakan morfologi bakteri meliputi warna koloni, bentuk koloni, pola persebaran. Pengamatan secara mikroskopis dengan mengamati kenampakan morfologi koloni bakteri menggunakan mikroskop.



Gambar 6. Diagram alir identifikasi bakteri (Schaad et al, 2001)

Karakterisasi bakteri menggunakan beberapa uji yang dapat dilakukan, diantaranya yaitu:

a. Pengecatan Gram

Dengan metode ini bakteri dapat dikelompokkan menjadi dua yaitu, bakteri gram positif dan bakteri gram negatif didasarkan dari reaksi atau sifat bakteri terhadap cat tersebut. Pengujian dilakukan dengan menyediakan isolat bakteri yang akan digunakan dan ditakkan pada cover glass kemudian ditetesi dengan aquades 1 tetes setelah itu mengambil isolat bakteri dengan jarum ose

lalu meletakkan diatas cover glass dan diayunkan diatas bunsen agar kering kemudian ditetesi dengan kristal violet 1 tetes dan disiram dengan air mengalir kemudian diikeringkan kembali diatas bunsen dan diberi iodine 1 tetes dan disiram dengan air mengalir kemudian diikeringkan lagi diatas bunsen dan diisemprot dengan alkohol dan dibilas dengan air mengalir dan diikeringkan lagi diatas bunsen setelah itu diberi safranin 1 tetes dan dibilas dengan air mengalir dan diikeringkan lagi diatas bunsen. Apabila isolat berwarna merah maka termasuk gram negatif dan apabila bewrna ungu termasuk kedalam gram positif.

b. Uji KOH 3%

Uji ini dilakukan dengan mencampurkan satu lup isolat bakteri pada gelas obyek yang telah ditetesi KOH 3%, kemudian diamati terbentuk tidaknya lendir. Jika terbentuk lendir maka bakteri tersebut dikelompokkan ke dalam gram negatif dan sebaliknya jika tidak terebntuk lender maka bakteri tersebut tergolong gram positif (Schaad, 2001).

c. Uji Oksidatif–Fermentatif

Uji ini dilakukan dengan menumbuhkan bakteri uji pada media oksidatif/fermentatif dengan pH 7,2 pada tabung reaksi. Masing–masing bakteri uji diinokulasikan pada 2 tabung reaksi. Bakteri uji diinokulasikan pada media dengan cara menusukkannya pada kedalaman 0,5 cm, kemudian ditutup dengan paraffin oil steril pada salah satu tabung, sedangkan tabung yang satunya tanpa diberi paraffin. Control pada pengujian ini berupa media uji tanpa bakteri. Pengamatan dilakukan selama 7–14 hari. Jika terjadi perubahan warna menjadi kuning hanya pada media uji tanpa paraffin oil berarti bakteri tersebut bersifat oksidatif, sedangkan bakteri fermentatif jika mengalami perubahan warna menjadi kuning, baik pada media berparafin maupun tanpa paraffin (Schaad, 2001).

d. Uji Katalase

Uji katalase dilakukan dengan cara meneteskan aquades diatas cover glass yang telah diberikan isolat bakteri, kemudian mengambil isolat bakteri sebanyak 1 ose lalu meletakkan isolat bakteri diatas cover glass dan diratakan kemudian mengambil H_2O_2 dengan pipet dan meneteskan pada isolat. Apabila pada isolat terdapat gelembung maka bakteri memiliki reaksi positif, apabila tidak terjadi gelembung maka menunjukkan bakteri tersebut memiliki reaksi negatif terhadap O^2 .

e. Pengujian Menggunakan Media YDC

Yeast Dextrose Carbonat (YDC) merupakan media semi selektif untuk pertumbuhan bakteri *Xanthomonas* sp. dan menjadi uji yang digunakan untuk membedakan anantara bakteri *Xanthomonas* sp. dengan *Xylophilus* sp. (Simatupang, 2008). Bakteri uji digoreskan pada media YDC yang kemudian diinkubasi selama 48 jam. Reaksi positif ditunjukkan dengan munculnya koloni bakteri berwarna kuning pada media.

f. Uji Hipersensitif

Pengujian Hipersensitif (HR) pada daun Tembakau. Pengujian reaksi hipersensitif dilakukan menggunakan 4 perlakuan dengan 1 perlakuan control dan 3 perlakuan dengan suspensi bakteri yang berbeda. Cara yang dilakukan dengan membuat suspensi bakteri dari biakan yang telah diinkubasikan 48 jam, kemudian membuat suspensi 3 ml aquades dengan 6 ose isolat bakteri. Hasil dari suspensi tersebut diinfiltrasikan pada permukaan bawah daun tembakau yang berumur sedang. Reaksi positif terlihat jika pada bagian yang diinfiltrasi suspensi bakteri terjadi nekrosis (Masnilah, 2013). Reaksi ini berguna untuk mengetahui sifat patogenik bakteri uji, kemudian suspensi bakteri tersebut diinokulasi pada daun tembakau dengan cara menyuntikkan pada permukaan bawah daun. Reaksi positif ditunjukkan setelah 24 jam sampai 28 jam inokulasi dengan terbentuknya gejala nekrosis pada bagian daun yang sudah diinjeksi.

3.5.3 Pengujian Herbisida

Pengujian di laboratorium dilakukan dengan teknik strik pada 2 bakteri dominan setiap lahan yang menggunakan herbisida dan tanpa herbisida. Herbisida yang digunakan yaitu Roundup dengan bahan aktif *Glifosat* 42%. Pengujian dilakukan dengan menggunakan herbisida dibuat dengan konsentrasi yang di uji adalah 0 ml (sebagai kontrol), konsentrasi P1 3,5 ml, konsentrasi P2 4 ml, konsentrasi P3 5,5 ml, konsentrasi P4 6 ml dan konsentrasi P5 6,5 ml dan dilakukan ulangan sebanyak 3 ulangan. Setelah itu pada setiap perlakuan dicampur dengan media NA dalam cawan petri secara aseptik hingga media padat. Cawan petri yang telah berisi media NA dengan campuran konsentrasi herbisida tersebut di tumbuhkan isolat bakteri dengan cara di strik dan dilakukan pengamatan pada hari ke berapa bakteri dapat tumbuh.

3.6 Variabel Pengamatan

3.6.1 Kelimpahan Bakteri

Variabel pengamatan pada pengujian ini merupakan data kuantitatif. Total koloni bakteri dihitung setelah masa inkubasi bakteri pada media NA selama 48 jam pada suhu ruang. Perhitungan sel bakteri yang dibiakkan pada cawan Petri menggunakan satuan CFU/ml atau mg. CFU singkatan dari Colony Forming Unit yang artinya unit-unit atau satuan pembentuk koloni untuk menyatakan jumlah koloni bakteri. Jumlah kelimpahan mikroba misalnya pada sampel daun, tanah dll menggunakan satuan bobot kering sampelnya sehingga satuan yang digunakan cfu/g. Perhitungan total koloni dapat dihitung dengan rumus:

$$\text{Kelimpahan Bakteri (cfu/g)} = \frac{\Sigma \text{koloni terhitung} \times Y}{\text{Berat tanah (g)}}$$

Keterangan:

Y = Faktor Pengenceran x Volume Sampel

3.6.2 Analisa Kelimpahan Bakteri

Analisis hasil dari kelimpahan bakteri rizosfer yang ditemukan yaitu dengan menggunakan uji independent sample T test dengan membandingkan hasil dari kedua lahan dan pengolahan data menggunakan Microsoft excel 2010.

IV. HASIL DAN PEMBAHASAN

4.1 Kondisi Aktual Lahan

Tabel 2. Penelusuran budidaya tanaman

No	Teknik Budidaya	Lahan Herbisida	Lahan Tanpa Herbisida
1.	Sejarah lahan	Ditanam kopi 6 tahun terakhir sebelumnya hanya pinus.	Mulai tahun 2014 di tanamai kopi oleh petani tanpa menebang pohon pinus yang sudah ada.
2.	Pembibitan	Dilakukan petani dengan mengambil bibit dari lahan kopi yang lain.	Melakukan pembibitan sendiri
3.	Varietas	Bestak dan jenis arabika campur	Tlogosari dan bestak
4.	Pengolaha tanah	Menggunakan cangkul.	Tidak ada pengolahan tanah
5.	Pemupukan	Menggunakan pupuk urea dan pupuk kandang pada awal tanam sampai umur 3 tahun tanam.	Pada awal tanam menggunakan pupuk kandang dan pupuk urea selama 1 tahun penanaman.
6.	Pengairan	Sistem tadah hujan	Sistem tadah hujan
7.	Hama	Kutu putih dan ulat yang menyerang batang	Kutu putih
8.	Penyakit	Karat daun	Karat daun
9.	Cara mengatasi hama penyakit	Penyakit dibiarkan karena tidak menyerang biji	Mengambil daun tanaman yang sakit.
10.	Penyiangan gulma	menggunakan herbisida jenis round up dan gramaxone	Menggunakan alat pemotong.
11.	Pemanfaatan sisa panen	Dimanfaatkan menjadi kompos.	Tidak ada pemanfaatan sisa panen
12.	Produktivitas biji kopi	2 kwintal dengan luas 8000 m ²	1,5 ha 500-1000 pohon Per pohon bijinya 2 kg

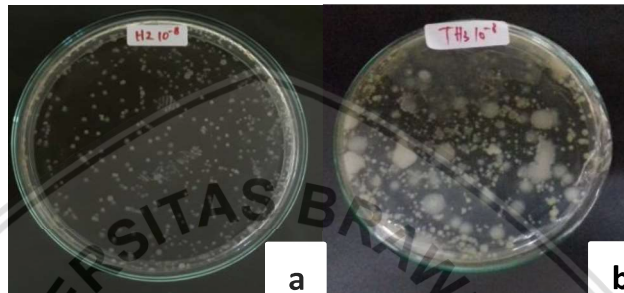
Kondisi aktual lahan untuk pengambilan sampel tanah terletak di hutan pendidikan UB *Forest* yang berada di Dusun Summersari Desa Tawang Argo Karangploso Kabupaten Malang. Sampel tanah di ambil pada lahan yang menggunakan herbisida dan tanpa herbisida pada lahan polikultur kopi dan pinus, lahan polikultur tanaman kopi dan pinus dengan penggunaan herbisida

terletak pada titik koordinat 7°82'44.4"S, 112°57'85.9"E. dan lahan tanpa herbisida terletak pada titik koordinat 7°82'17.5"S, 112°57'71.7"E. Pada lahan tanpa herbisida mempunyai luas 500 m² dan lahan herbisida mempunyai luas lahan 8000 m². Pada kedua lahan menggunakan bahan masukan pupuk urea dan pupuk kandang namun perbedaannya adalah penggunaan herbisida Round up dan tanpa herbisida. Pada lahan yang tanpa menggunakan herbisida dapat dilihat penyakit yang menyerang lebih sedikit dibanding lahan yang menggunakan herbisida. Penyakit yang menyerang tanaman kopi yaitu karat daun dan hama yang menyerang yaitu cabuk, pada penyakit yang menyerang daun pengendaliannya hanya di potong daun yang terserang saja dan hama cabuk sendiri dibiarkan karena ketika terkena hujan menurut petani hama tersebut akan hilang terkena air hujan. Pemberian herbisida dilakukan ketika gulma yang tumbuh sudah banyak dan sulit untuk di lakukan pengendalian secara manual. Sedangkan pada lahan yang tanpa menggunakan herbisida, gulma yang tumbuh dilakukan pengendalian secara manual dengan mencabutnya menggunakan alat pemotong gulma . Pada lahan tanpa herbisida tidak pernah melakukan pengolahan secara manual dengan mencangkul namun langsung dilakukan penanaman dan pada lahan herbisida dilakukan pengolahan secara manual dengan cara mencangkulnya.

Sejarah lahan polikultur kopi dan pinus yang menggunakan herbisida sudah ditanami kopi dan pinus selama 6 tahun dan sebelumnya merupakan hutan yang ditanami pinus sedangkan lahan yang tanpa menggunakan herbisida baru di tanami kopi selama 4 tahun karena sebelumnya lahan merupakan milik LSM dan hanya ditanami pinus. Kopi mempunyai masa panen yang lumayan lama yaitu sekitar 1 tahun setelah tanam baru bisa di panen, pada pemanenan biasanya setiap pohon rata-rata menghasilkan biji kopi 2 kg. Jenis kopi yang ditanaman pada lahan tanpa herbisida yaitu robusta dengan varietas tlogosari dan bestak yang di dapatkan dari hasil pembibitan yang dilakukan oleh petani sendiri dari lahan. Sedangkan jenis kopi yang di tanaman pada lahan dengan herbisida yaitu arabika dan varietasnya adalah bestak yang pembibitannya dilakukan sendiri oleh petani. Hasil panen kopi biasanya dijual dengan bentuk mentah dengan harga Rp. 7800 per Kg. Pada lahan yang menggunakan herbisida dari sisa panen tanaman kopi tersebut dibiarkan pada lahan dan menurut petani daun dari sisa tanaman kopi tersebut dapat menjadi kompos dan menjadikan subur tanaman kopi tersebut.

4.2 Isolasi Bakteri dari Rizosfer Tanaman Kopi dan Pinus

Isolasi bakteri rizosfer polikultur tanaman kopi dan pinus dengan penggunaan herbisida dan tanpa herbisida diambil dari lahan UB *Forest* yang berada di Dusun Summersari, Desa Tawang Argo, Kecamatan Karangploso, Kabupaten Malang pada 30 Januari 2018. Isolasi bakteri menggunakan metode pengenceran bertingkat atau *dilution plate* dan selanjutnya dilakukan purifikasi dengan memilih morfologi koloni pada bakteri yang berada di media NA yang berumur 48 jam.



Gambar 7. Hasil pengenceran 10^8 bakteri (a) : pada lahan dengan herbisida, (b) : pada lahan tanpa herbisida pada media NA yang berumur 48 jam

Jumlah isolat bakteri yang ditemukan pada rizosfer polikultur tanaman kopi dan pinus dengan penggunaan herbisida adalah 28 isolat dan tanpa herbisida adalah 12 isolat pada pengenceran 10^8 dengan morfologi yang berbeda. Bakteri tersebut berada di daerah rizosfer atau perakaran tanaman, bakteri yang berada di tanah merupakan mikroorganisme yang lebih dominan dibandingkan dengan jamur dan protozoa. Bakteri mampu tumbuh di dalam tanah dengan kondisi berbeda dan berada pada setiap lapisan tanah (Ardi, 2009). Hasil dari isolasi yang didapatkan akan diidentifikasi dan 2 bakteri dominan pada setiap lahan akan diuji pertumbuhannya pada media NA dengan campuran herbisida pada konsentrasi yang berbeda.

4.3 Kelimpahan Bakteri

Hasil kelimpahan koloni bakteri yang di dapatkan dari kedua lahan yang dilakukan purifikasi hasil pengenceran 10^8 . Hasil kelimpahan bakteri lahan herbisida $2,5 \times 10^8 \text{ cfu/g}$ dan tanpa herbisida $4,3 \times 10^8 \text{ cfu/g}$. Pada hasil kelimpahan bakteri yang telah diperoleh dapat diketahui bahwa lahan tanpa herbisida mempunyai jumlah koloni bakteri yang lebih banyak dibandingkan dengan lahan yang menggunakan herbisida, hal tersebut dikarenakan pada lahan yang menggunakan herbisida akan menyebabkan tercemarnya lingkungan sekitar terutama dapat mengganggu dan menurunkan populasi mikroorganisme

yang berada di dalam tanah. Penggunaan herbisida berbahan aktif *Glifosat* tersebut akan mempengaruhi kelimpahan bakteri rizosfer karena herbisida berbahan aktif *Glifosat* ini mempunyai spektrum luas yang digunakan untuk mengendalikan gulma pada tanaman kopi. Aplikasi herbisida yang berlebihan dapat menyebabkan dampak negatif terhadap lingkungan, mengurangi populasi organisme non target, keragaman hayati dan resistensi gulma terhadap herbisida (Widowati, 2017).

4.4 Identifikasi Bakteri

Bakteri yang didapatkan dari lahan herbisida dan tanpa herbisida dilakukan identifikasi untuk diketahui sifat morfologinya secara biokimia dan fisiologi berdasarkan Bergey's Manual of Determinative Bacteriology (1994) dan Schaad *et al.* (2001).

4.4.1 Karakteristik Morfologi

Isolat bakteri pada lahan dengan herbisida dan tanpa herbisida di goreskan pada media NA dan di inkubasi selama 24-48 jam, hal ini di dapatkan untuk mendapatkan koloni tunggal yang akan diamati karakteristik morfologinya, hasil karakterisasi isolat pada lahan tanpa herbisida dapat dilihat pada tabel 3 dan pada lahan dengan herbisida tabel 4.

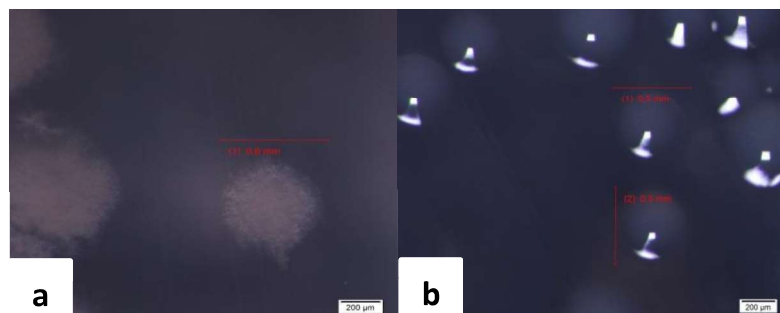
Tabel 3. Hasil pengamatan karakteristik koloni tunggal bakteri pada yang mengandung herbisida

No	Kode	Bentuk	Elevasi	Permukaan	Tepian	Warna
1.	H1	Rhizoid	Cembung	Halus mengkilat	Bergelombang	Putih
2.	H2	Bulat	Cembung	Halus mengkilat	Rata	Putih
3.	H3	Rhizoid	Cembung	Kusam	Bergelombang	Putih
4.	H4	Bulat	Cembung	Halus mengkilat	Rata	Putih
5.	H5	Bulat	Cembung	Halus mengkilat	Rata	Putih susu
6.	H6	Rhizoid	Datar	Kusam	Bergelombang	Krem
7.	H7	Bulat	Cembung	Kusam	Bergelombang	Putih
8.	H8	Bulat	Cembung	Halus Mengkilat	Rata	Putih
9.	H9	Bulat	Cembung	Halus mengkilat	Bergelombang	Putih
10.	H10	Bulat	Cembung	Halus mengkilat	Bergelombang	Putih
11.	H11	Bulat	Cembung	Halus mengkilat	Rata	Kuning
13.	H13	Bulat	Cembung	Halus mengkilat	Rata	Putih susu

Tabel 4. Hasil pengamatan karakteristik koloni tunggal bakteri pada lahan tanpa herbisida

No	Kode	Bentuk	Elevasi	Permukaan	Tepian	Warna
1.	TH1	Rhizoid	Cembung	Halus mengkilat	Bergelombang	Putih
2.	TH2	Bulat	Cembung	Halus mengkilat	Bergelombang	Putih
3.	TH3	Bulat	Cembung	Kusam	Rata	Putih susu
4.	TH5	Bulat	Cembung	Kusam	Bergelombang	Putih
5.	TH6	Bulat	Cembung	Halus mengkilat	Bergelombang	Putih kekuningan
6.	TH7	Rhizoid	Cembung	Kusam	Bergelombang	Putih
7.	TH8	Bulat	Cembung	Kusam	Bergelombang	Putih susu
8.	TH 9	Bulat	Datar	Kusam	Rata	
9.	TH11	Rhizoid	Cembung	Mengkilat	Bergelombang	Putih
10.	TH12	Rhizoid	Cembung	Halus mengkilat	Rata	Putih susu
11.	TH13	Bulat	Cembung	Halus mengkilat	Rata	Kuning
12.	TH15	Bulat	Cembung	Mengkilat	Rata	Putih
13.	TH16	Bulat	Cembung	Halus mengkilat	Rata	Merah
14.	TH18	Bulat	Cembung	Halus mengkilat	Rata	Putih
15.	TH19	Bulat	Cembung	Halus mengkilat	Rata	Putih kekuningan
16.	TH20	Bulat	Cembung	Kusam	Rata	Putih
17.	TH21	Bulat	Cembung	Mengkilat	Rata	Putih susu
18.	TH22	Bulat	Cembung	Mengkilat	Rata	Putih
19.	TH23	Bulat	Cembung	Mengkilat	Rata	Putih susu
20.	TH25	Bulat	Cembung	Halus Mengkilat	Rata	Putih
21.	TH26	Bulat	Cembung	Mengkilat	Bergelombang	Putih susu
22.	TH2.7	Bulat	Cembung	Kusam	Bergelombang	Putih susu
23.	TH29	Bulat	Cembung	Kusam	Rata	Putih
24.	TH31	Bulat	Datar	Kusam	Bergelombang	Putih susu
25.	TH32	Bulat	Datar	Mengkilat	Rata	Putih susu
26.	TH33	Bulat	Cembung	Halus mengkilat	Rata	Putih
27.	TH35	Bulat	Cembung	Kusam	Bergelombang	Putih
28.	TH37	Bulat	Cembung	Halus mengkilat	Bergelombang	Putih

Dari hasil pengamatan morfologi diketahui bahwa bakteri yang dominan pada kedua lahan yang di uji dengan media mengandung herbisida bahan aktif *Glifosat* mempunyai morfologi koloni yang berbeda . Pada umumnya bakteri memiliki bentuk koloni bulat dengan elevasi datar dan cembung, permukaan halus dan kusam memiliki tepi rata dan bergelombang serta warna putih, putih keruh, putih kekuningan dan kuning bening.



Gambar 8. Bentuk koloni bakteri pada media NA (a): Isolat TH26, (c): Isolat H4

4.4.2 Karakteristik Fisiologi dan Biokimia

Selain Pengamatan secara morfologi juga dilakukan pengamatan secara fisiologi dan biokimia berdasarkan buku Bergey's Determinative Bacteriology (Holt *et al.*, 1994) dan (Schaad *et al.*, 2001) untuk dapat mengidentifikasi jenis bakteri melalui beberapa tahap meliputi uji hipersensitif, uji gram, uji OF, pertumbuhan pada media YDC dan pada media Kings B dan uji katalase.

Tabel 5. Karakteristik fisiologi dan biokimia bakteri lahan dengan herbisida

Isolat	Karakter						
	Uji hipersensitif	Uji KOH 3%	Uji Gram	Uji Pengecatan Endospora	Uji Oksidatif-Fermentatif	Media YDC	Uji katalase
H1	-	-	-	TD	F	-	+
H2	-	+	+	-	F	TD	+
H3	+	-	-	TD	F	-	+
H4	+	-	-	TD	O	TD	+
H5	+	-	-	TD	F	+	+
H6	+	-	-	TD	F	-	+
H7	+	-	-	TD	O	TD	+
H8	+	-	-	TD	F	-	+
H9	+	+	+	+	O	TD	+
H10	+	-	-	TD	F	--	+
H11	+	-	-	TD	F	-	+
H13	-	-	-	TD	O	TD	+

Keterangan: (+) = reaksi positif, (-) = reaksi negatif, (F) = fermentatif, (O) = Oksidatif, (TD) = Tidak Diuji

Tabel 6. Karakteristik fisiologi dan biokimia bakteri lahan tanpa herbisida

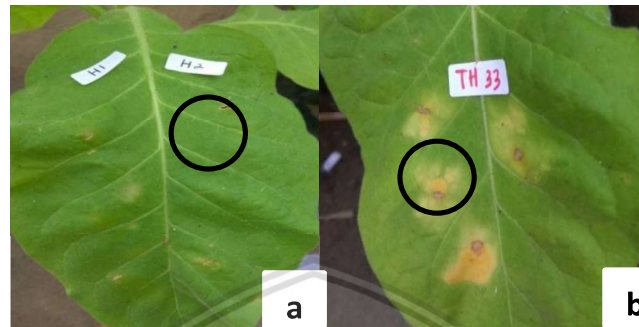
Isolat	Karakter						
	Uji hipersensitif	Uji KOH 3%	Uji Gram	Uji Pengecatan Endospora	Uji Oksidatif Ferementatif	Media YDC	Uji katalase
TH1	-	-	-	TD	F	-	+
TH2	-	-	-	TD	O	TD	+
TH3	-	-	-	TD	F	-	+
TH5	+	-	-	TD	F	+	+
TH6	-	-	-	TD	O	TD	+
TH7	-	-	-	TD	F	-	+
TH8	+	-	-	TD	O	TD	+
TH 9	+	-	-	TD	F	-	+
TH11	+	-	-	TD	F	-	-
TH12	-	+	+	+	F	TD	-
TH13	+	-	-	TD	F	+	-
TH15	+	-	-	TD	F	-	+
TH16	-	+	+	+	F	TD	+
TH18	+	-	-	TD	F	-	+
TH19	+	-	-	TD	F	-	-
TH20	+	-	+	TD	O	TD	+
TH21	-	-	-	TD	F	-	-
TH22	+	-	-	TD	O	TD	-
TH23	-	-	-	TD	F	-	+
TH25	-	-	-	TD	F	-	+
TH26	-	-	-	TD	F	-	+
TH27	-	-	-	TD	F	-	+
TH29	+	-	-	TD	F	+	+
TH31	-	-	-	TD	F	+	+
TH32	+	-	-	TD	F	-	+
TH33	+	-	-	TD	F	+	+
TH35	+	-	-	TD	F	+	+
TH37	-	-	-	TD	F	+	+

Keterangan: (+) = reaksi positif, (-) = reaksi negatif, (F) = fermentatif, (O) = Oksidatif, (TD) = Tidak Diuji

1. Uji Hipersensitif

Uji hipersensitif dilakukan menggunakan tanaman tembakau yang dilakukan pengamatan selama 48 jam setelah dilakukan inokulasi. Menurut

Lelliont dan Stead (1987) bakteri yang mempunyai sifat patogen pada tanaman dapat menginduksi respon hipersensitif jika diinjeksikan ke dalam jaringan tanaman inang yang tidak mempunyai kerentanan selama 24-72 jam setelah dilakukan inokulasi.



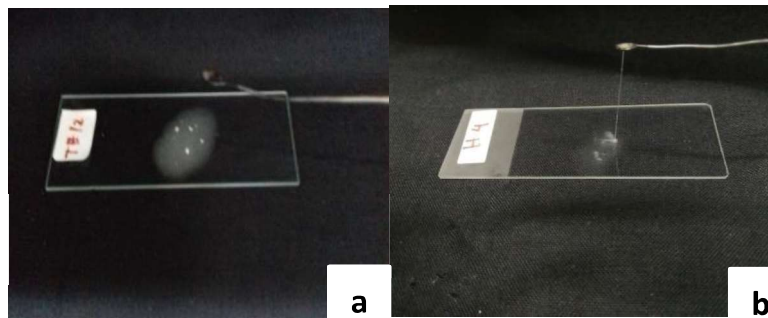
Gambar 9. Hasil uji hipersensitif isolat bakteri (a): Isolasi H2 tidak menunjukkan gejala nekrosis, (b): Isolasi TH33 menunjukkan gejala nekrosis selama 48 jam pengamatan

Hasil dari pengamatan yang telah dilakukan menunjukkan bahwa pada isolat H7 menunjukkan gejala nekrosis dan pada isolat TH26 tidak menunjukkan gejala nekrosis setelah dilakukan pengamatan selama 48 jam. Hal tersebut membuktikan bahwa H7 merupakan bakteri patogen tanaman sedangkan pada isolat TH26 bukan merupakan bakteri patogen pada tanaman. Hal ini sesuai dengan pendapat Kerr dan Gibb (1997) apabila isolat yang di uji merupakan bakteri patogen maka akan terjadi nekrosis pada daun tembakau, hal tersebut menunjukkan hubungan yang kompatibel antara patogen dan tanaman tembakau. Sedangkan apabila suspensi isolat bakteri yang di suntikan pada daun tembakau tidak terdapat respon hipersensitif maka dapat digunakan sebagai inokulan untuk memacu pertumbuhan pada tanaman (Lelliot dan Stead, 1987).

2. Pengujian Gram

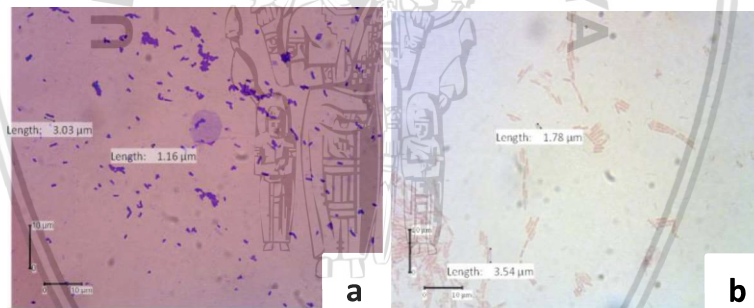
Pengujian gram bertujuan untuk menentukan apakah isolat yang diisolasi dari lahan pada lahan yang menggunakan herbisida dan tanpa herbisida mempunyai gram positif atau negatif, pengujian ini dilakukan dengan metode KOH 3% dan pewarnaan gram. Pada metode KOH 3% hasil pengujian bakteri akan ditandai adanya lendir jika gram negatif dan tidak berlendir jika gram positif jika diangkat menggunakan jarum ose. Hal tersebut sesuai dengan Schaad *et al* (2001) yang menyatakan bahwa pada uji bakteri terhadap KOH 3%, bakteri yang di uji jika gram negatif maka akan terlihat berlendir, lengket dan seperti benang saat ose diangkat. Sedangkan pada bakteri gram positif, maka bakteri yang di

uji tidak akan terlihat lendir, encer dan tidak akan terangkat seperti benang oleh jarum ose saat diangkat.



Gambar 10. Hasil uji KOH 3% pada isolat bakteri menunjukkan gram positif (tidak berlendir, (a) : TH12, (b) : H4 menunjukkan gram negatif (berlendir)

Setelah dilakukan pengujian KOH 3% selanjutnya dilakukan pengujian pengecatan gram untuk mengetahui apakah benar bakteri tersebut memiliki sifat negatif atau positif. Schaad *et al* (2001) Menyatakan bahwa bakteri yang telah dilakukan pengujian pengecatan gram maka akan terlihat pada bakteri gram negatif berwarna kemerahan sedangkan bakteri gram positif akan berwarna ungu sampai biru kehitaman jika diamati dengan mikroskop.

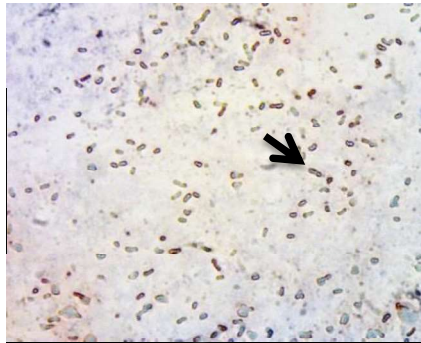


Gambar 11. Hasil uji pengecatan gram pada isolat bakteri, (a) : H9 menunjukkan gram positif dan terlihat berwarna ungu, (b) : TH3 menunjukkan gram negatif dan terlihat berwarna kemerahan pada perbesaran mikroskop 100x

3. Pewarnaan Spora

Pewarnaan atau pengecatan spora merupakan uji lanjutan untuk isolat yang memiliki gram positif. Metode ini dilakukan untuk mengetahui apakah isolat bakteri tersebut memiliki spora atau tidak pada mikroskop dengan perbesaran 100x. Berdasarkan Schaad *et al* (2001) apabila koloni bakteri memiliki spora maka apabila diamati di mikroskop spora bakteri akan terlihat mempunyai warna kehijauan sedangkan sel vegetatifnya berwarna merah. Dari hasil pengamatan

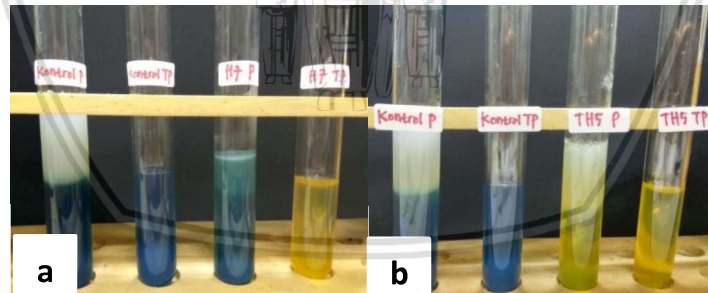
koloni bakteri TH12, TH16 dan H9 menunjukkan hasil positif memiliki spora sedangkan isolat H2 tidak memiliki spora.



Gambar 12. Uji pewarnaan spora, terdapat spora pada Isolat TH16 yang ditunjukkan panah hitam pada perbesaran mikroskop 100x

4. Uji Oksidatif-Fermentatif

Pada uji oksidatif-fermentatif ini dilakukan untuk mengetahui apakah bakteri yang di letakkan pada media OF pada tabung reaksi mempunyai reaksi oksidatif atau fermentatif dengan salah satu media pada tabung di tutup menggunakan *water agar* dengan tujuan agar tidak ada udara yang akan masuk yang dapat mendukung terjadinya proses fermentasi (Schaad *et al*, 2001). Pengujian dikatakan bereaksi negatif apabila tidak terjadi perubahan warna pada media yang dilapisi *water agar*, sedangkan reaksi positif apabila tabung keduanya terjadi perubahan warna menjadi warna kuning.

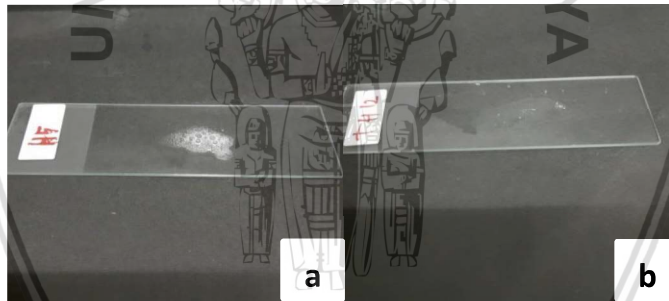


Gambar 13. Uji Oksidatif Fermentatif, (a) : Isolat H7 menunjukkan bakteri yang oksidatif (b) Isolat TH5 menunjukkan bakteri yang fermentatif

Bakteri yang menunjukkan hasil oksidatif hanya akan memproduksi reaksi asam pada media yang tidak di tutup oleh *water agar* dan hanya sedikit membentuk asam pada media yang ditutup sedangkan bakteri yang menunjukkan hasil fermentatif akan menghasilkan reaksi asam pada media yang ditutup *water agar* maupun tidak. Bakteri yang mampu memfermentasi glukosa yaitu *Erwinia* sp. dan *Pantoea* sp. (Schaad *et al*, 2001).

5. Uji Katalase

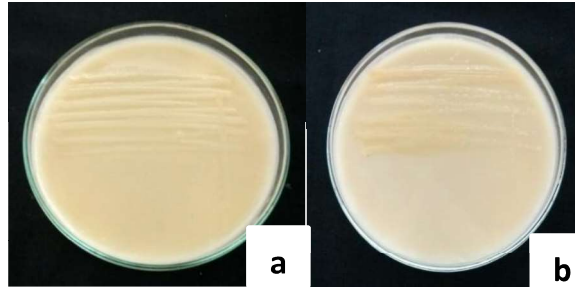
Pengujian katalase dilakukan pada bakteri tertentu apakah bakteri tersebut dapat mampu mengeluarkan enzim katalase atau tidak. Enzim tersebut merupakan enzim yang berfungsi sebagai katalisator dalam penguraian hydrogen-peroksida (H_2O_2) untuk dapat menghasilkan oksigen dan air. Produksi enzim katalase tersebut bisa dilihat dengan menambahkan cairan H_2O_2 pada isolat bakteri yang akan diujikan, jika setelah penambahan isolat mampu mengeluarkan gelembung gas maka isolat tersebut mampu mengeluarkan enzim katalase dan apabila isolat tidak mengeluarkan gelembung gas berarti mempunyai reaksi negatif. Cappuciono dan Sherman (2005) menyatakan reaksi positif dari uji katalase ditandai dengan terbentuknya gelembung-gelembung oksigen pada permukaan koloni bakteri setelah ditetsi H_2O_2 , terbentuknya gelembung-gelembung oksigen tersebut mengindikasikan adanya reaksi penguraian hydrogen oleh enzim katalase yang dapat dihasilkan oleh mikroorganisme. Pada bakteri *Erwinia* sp. dan *Pantoea* sp. adalah jenis bakteri yang mempunyai reaksi katalase positif (Schaad, 2001).



Gambar 14. Hasil pengujian katalase, (a) : Isolat H5 yang menunjukkan hasil positif, (b) : Isolat TH12 yang menunjukkan hasil negatif

6. Pengujian Media YDC

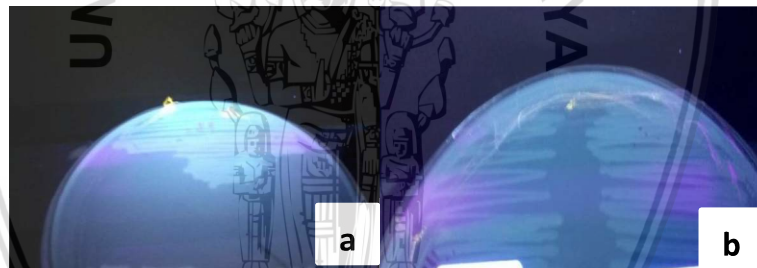
Pengujian media YDC dilakukan untuk mengetahui dan membedakan bakteri pada tingkat genus yaitu *Pantoea* sp. atau *Erwinia* sp. Schaad *et al.* (2001) Bakteri yang ditumbuhkan pada media YDC akan membentuk koloni berwarna putih jika bakteri tersebut termasuk genus *Erwinia* sp. dan berwarna kuning jika bakteri tersebut termasuk bakteri genus *Pantoea* sp. Bakteri ditumbuhkan pada media dengan metode *streak* tunggal dan diinkubasi 48 jam lalu diamati.



Gambar 15. Hasil pengujian pada media YDC, (a) : Isolat H4 yang menunjukkan hasil negatif yaitu berwarna putih, (b) : Isolat TH5 yang menunjukkan hasil positif yaitu berwarna kuning

7. Pigmen Fluoresen pada Media King's B

Pada pengujian pigmen fluoresen isolat bakteri akan ditumbuhkan pada media king's B yang selanjutnya akan diamati dibawah sinar UV. Schaad *et al* (2001) menyatakan bahwa isolat bakteri yang ditumbuhkan di King's B dan diamati dibawah sinar UV akan menghasikan pigmen fluoresen yang berpendar kehijauan. Bakteri yang akan di uji di goreskan pada media king's B dan diinkubasi selama 24 jam lalu diamati dibawah sinar UV .



Gambar 16. Hasil pengujian pigmen fluoresen pada media king's B, (a) : Isolat H7 yang menunjukkan hasil positif, (b) : Isolat 32 yang menunjukkan hasil negatif

8. Pertumbuhan pada Media YDC 33° C

Pertumbuhan pada media YDC 33° C dilakukan untuk mengetahui jenis bakteri yang tumbuh merupakan jenis bakteri *Xantomonas* sp. atau *Xylophilus* sp (Schaad *et al*, 2001). Bakteri yang di ujikan digoreskan pada media YDC dan diinkubasi selama 48 jam pada suhu 33° C. Reaksi positif dapat dilihat jika isolat bakteri berwarna kuning. Pada isolat 32 menunjukkan bahwa isolat tersebut berwarna positif kuning.



Gambar 17. Hasil pengujian isolat TH32 pada media YDC suhu 33° C menunjukkan hasil positif berwarna kuning.

4.5 Hasil Identifikasi Genus Bakteri

Pada lahan yang menggunakan herbisida dapat diketahui bahwa bakteri yang ditemukan sebagian besar adalah bakteri yang berpotensi sebagai patogen tanaman sesuai dengan pengujian hipersensitif pada tanaman tembakau, sedangkan pada lahan tanpa menggunakan herbisida bakteri yang dominan adalah bakteri non patogen. Pemberian herbisida berbahan aktif *Glifosat* 42% yang dilakukan petani dapat diketahui bahwa menyebabkan bakteri patogen lebih dominan dibandingkan dengan bakteri non patogen. Pemberian herbisida secara intensif juga dapat menyebabkan bakteri lebih resisten dan tahan terhadap herbisida. Pada lahan dengan herbisida tidak ditemukan bakteri genus *Clostridium* sp. dan *Xanthomonas* sp. tetapi ditemukan bakteri *Bacillus* sp. yang tidak ditemukan pada lahan tanpa menggunakan herbisida.

Tidak ditemukannya jenis bakteri tersebut dapat diketahui karena pada lahan yang menggunakan herbisida melakukan pengendalian gulma secara intensif. Sedangkan bakteri tersebut berpotensi sebagai agens pengendali hayati, yaitu bakteri antagonis yang merupakan bakteri non patogen. Mikroorganisme yang bisa hidup pada daerah rizosfer sangat sesuai digunakan sebagai agens pengendalian hayati mengingat bahwa rizosfer adalah daerah yang utama dimana akar tumbuhan terbuka terhadap serangan patogen. Mekanisme dari agens pengendali hayati dalam melemahkan atau membunuh patogen tanaman adalah dengan memparasit patogen secara langsung, memproduksi antibiotik (toksin), berkompetisi dalam ruang dan nutrisi, memproduksi enzim untuk melawan komponen sel patogen dan menginduksi respon ketahanan tanaman (Agrios, 1996).

Tabel 7. Hasil identifikasi bakteri rizosfer pada lahan dengan herbisida dan tanpa herbisida sampai tingkat genus

Kode Isolat Lahan Herbisida	Jenis Bakteri	Jumlah Koloni (Cfu/g)	Kode Isolat Lahan Tanpa Herbisida	Jenis Bakteri	Jumlah Koloni
H1	<i>Erwinia</i> sp.	4×10^8	TH1	<i>Erwinia</i> sp.	2×10^8
H2	Tidak teridentifikasi	3×10^8 2×10^8	TH2	<i>Pseudomonas</i> sp.	5×10^8
H3	<i>Erwinia</i> sp.	2×10^8	TH3	<i>Erwinia</i> sp.	5×10^8
H4	<i>Erwinia</i> sp.	3×10^8	TH5	<i>Pantoea</i> sp.	3×10^8
H5	<i>Pantoea</i> sp.	3×10^8	TH6	<i>Pseudomonas</i> sp.	4×10^8
H6	<i>Erwinia</i> sp..	2×10^8	TH7	<i>Erwinia</i> sp.	5×10^8
H7	<i>Pseudomonas</i> sp.	3×10^8	TH8	<i>Pseudomonas</i> sp.	4×10^8
H8	<i>Erwinia</i> sp.	2×10^8	TH9	<i>Erwinia</i> sp.	6×10^8
H9	<i>Bacillus</i> sp.	2×10^8	TH11	<i>Erwinia</i> sp.	8×10^8
H10	<i>Erwinia</i> sp.	3×10^8	TH12	<i>Clostridium</i> sp.	2×10^8
H11	<i>Erwinia</i> sp.	2×10^8	TH13	<i>Pantoea</i> sp.	5×10^8
H13	<i>Pseudomonas</i> sp.	2×10^8	TH15	<i>Erwinia</i> sp.	4×10^8
			TH16	<i>Clostridium</i> sp.	4×10^8
			TH18	<i>Erwinia</i> sp.	2×10^8
			TH19	<i>Erwinia</i> sp.	1×10^8
			TH20	<i>Pseudomonas</i> sp.	12×10^8
			TH21	<i>Erwinia</i> sp.	10×10^8
			TH22	<i>Pseudomonas</i> sp.	9×10^8
			TH23	<i>Erwinia</i> sp.	8×10^8
			TH25	<i>Erwinia</i> sp.	2×10^8
			TH26	<i>Erwinia</i> sp.	1×10^8
			TH27	<i>Erwinia</i> sp.	1×10^8
			TH29	<i>Pantoea</i> sp.	3×10^8
			TH31	<i>Pantoea</i> sp.	2×10^8
			TH32	<i>Xanthomonas</i> sp.	2×10^8
			TH33	<i>Pantoea</i> sp.	1×10^8
			TH35	<i>Pantoea</i> sp.	3×10^8
			TH37	<i>Pantoea</i> sp.	4×10^8
		$\Sigma = 2,5 \times 10^8$			$\Sigma = 4,3 \times 10^8$

4.6 Potensi Bakteri pada Lahan Herbisida dan Tanpa Herbisida

1. Genus *Bacillus* sp.

Genus *Bacillus* sp. mempunyai potensi untuk dijadikan pupuk hayati. Pupuk hayati tersebut dapat mengandung mikroorganisme tertentu yang berfungsi sebagai pemfiksasi N, pelarut P, selulolitik mikroorganisme (dekomposer) atau penghasil ZPT untuk dapat diaplikasikan pada benih, tanah atau kompos dengan tujuan untuk meningkatkan jumlah mikroorganisme yang bermanfaat dan mempercepat dalam proses peningkatan ketersediaan hara yang dapat diserap tanaman. Pada pupuk hayati bakteri *Bacillus* sp. dapat mempunyai potensi untuk menghasilkan enzim fosfatase yang mengubah organik P menjadi P anorganik sehingga tersedia untuk tanaman. (Simarmata, 2013).

Selain itu bakteri genus *Bacillus* sp. dapat berpotensi menjadi biodekomposer, mikroorganisme yang berfungsi sebagai dekomposer akan menguraikan bahan organik dan mendukung proses mineralisasi dalam tanah. Mikroorganisme ini menggunakan bahan organik sebagai sumber energi dan melepaskan mineral seperti NO_3^- , NH_4^+ , K^+ , Ca^{2+} , Mg^{2+} ke dalam tanah (Sullivan, 2004).

2. Genus *Xanthomonas* sp.

Sebagian besar genus *Xanthomonas* sp. mempunyai potensi menjadi patogen penyebab penyakit tanaman yang menyerang tanaman inangnya. Salah satu contohnya yaitu *Xanthomonas oryzae* yang menyebabkan penyakit hawar daun pada tanaman padi. Namun selain dapat menjadi patogen penyebab penyakit genus *Xanthomonas* sp. dapat menjadi agens pengendali hayati yang dapat menjadi pemacu ketahanan terhadap penyakit pada tanaman. Genus *Xanthomonas* sp. mempunyai penghambatan terbesar sebesar 38,38% yang berpotensi sebagai agens pengendali hayati penyakit akar putih *Rigidoporus microporus* (Afizar, 2017).

3. Genus *Pseudomonas* sp.

Salah satu potensi bakteri genus *Pseudomonas* sp. sebagai bakteri pelarut P, salah satu contoh dari spesies *Pseudomonas* sp. yaitu *Pseudomonas fluorescens* dapat menyebabkan tanah di lingkungan perakaran menjadi lebih asam sehingga melarutkan fosfor menjadi tersedia bagi tanaman (de Werra et al., 2009). Selain itu potensi *Pseudomonas* sp. dapat menghasilkan ZPT biasanya merupakan pupuk hayati sekaligus biopestisida. Zat pengatur tumbuh dapat dihasilkan dengan dua cara yaitu dengan cara interaksi langsung antara

mikroba dengan tanaman atau dengan cara tidak langsung melalui aktivitas pengendalian patogen (Berg, 2009). *Pseudomonas* sp juga dapat menjadi agens antagonis jika bakteri tersebut tergolong non patogen, Mekanisme pengendalian yang dilakukan oleh bakteri antagonis yaitu dengan menghasilkan enzim salah satunya enzim protease. Umumnya terdapat pada salah satu bakteri genus *Pseudomonas* sp.

4. Genus *Clostridium* sp.

Potensi yang ada pada genus *Clostridium* sp. dapat menjadi dekomposer yang akan menguraikan bahan organik dan mendukung proses mineralisasi dalam tanah, mikroorganisme ini menggunakan bahan organik sebagai sumber energi dan melepaskan mineral seperti NO_3^- , NH_4^+ , K^+ , Ca^{2+} , Mg^{2+} kedalam tanah (Sullivan, 2004). Selain itu ada juga mikroorganisme yang menguraikan selulosa dengan menggunakan enzim *cellulosome* (bakteri anaerob) atau ekstrak seluler enzim (bakteri aerob).

5. Genus *Erwinia* sp.

Pada genus *Erwinia* sp. ini sebagian besar menjadi patogen yaitu penyebab penyakit tanaman yang merugikan. Bakteri genus *Erwinia* mampu melawan antibiotik yang dihasilkan bakteri yang bersifat antagonis dikarenakan bakteri genus *Erwinia* mampu mengantisipasi dengan cara menghasilkan senyawa sehingga dapat mendegradasi antibiotik. (Tasnim *et al.*, 2013). Namun selain mempunyai potensi sebagai patogen terdapat juga genus dari *Erwinia* sp. yang bersifat non patogen dan dapat menjadi agens antagonis yang dijadikan sebagai pengendali hayati. Mikroorganisme antagonis yang dapat digunakan sebagai pengendali hayati yaitu bakteri yang memiliki sifat antagonis terhadap pertumbuhan patogen. Salah satu genus bakteri yang berpotensi sebagai agens pengendali hayati yaitu *Erwinia* (Nasahi, 2010).

6. Genus *Pantoea* sp.

Genus *Pantoea* sp. juga mempunyai potensi sebagai patogen penyebab tanaman, selain pada rizosfer bakteri genus *Pantoea* sp. juga banyak ditemukan di daerah endofit tanaman dan mempunyai potensi sebagai agens antagonis dan dapat dijadikan sebagai penegendali hayati untuk tanaman. Mekanisme bakteri yang berpotensi sebagai agens antagonis dalam melindungi tanaman dengan mekanisme induksi pertahanan tanaman dan sekresi zat yang bersifat antagonis terhadap patogen atau dengan kompetisi untuk memperoleh nutrisi dan ruang untuk melakukan kolonisasi. (Hurek *et al.*, 2011)

4.7 Pengujian Bakteri dengan Herbisida

Pada pengujian isolat bakteri dengan media yang sudah di tambah herbisida bahan aktif *Glifosat* 42% ini menggunakan metode *streak* satu kuadran pada media tersebut. Isolat bakteri yang digunakan merupakan isolat yang paling dominan pada kedua lahan. Berikut ini merupakan tabel hasil isolat bakteri yang diuji dengan media NA yang ditambahkan herbisida dengan bahan aktif *Glifosat* 42%

Tabel 8. Hasil pengujian isolat bakteri dengan media NA+Herbisida pada pengamatan 48 jam

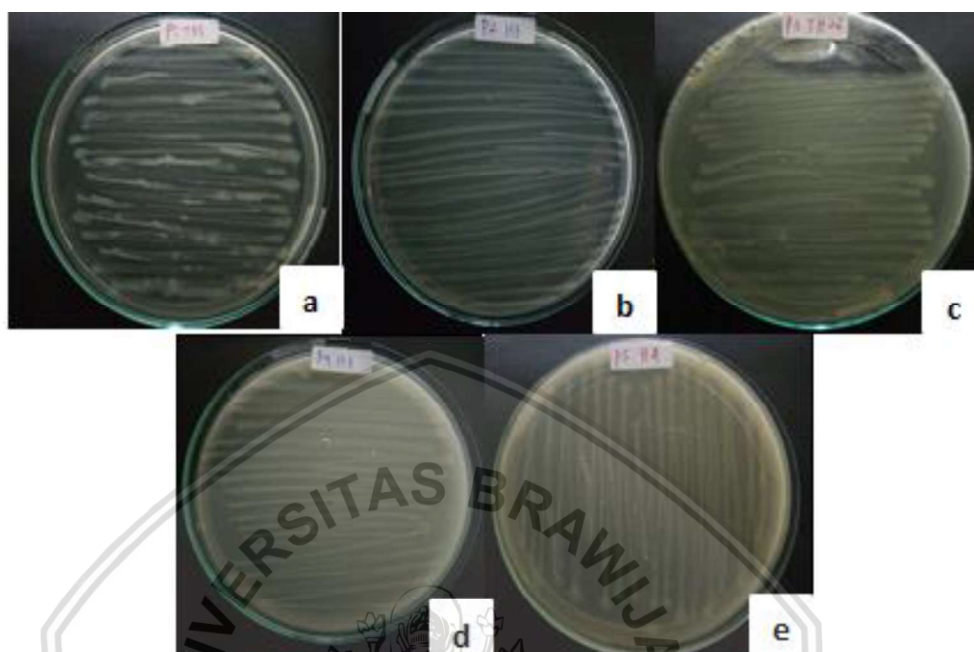
Kode Perlakuan	Kosentrasi Hebisida (ml/l)	Isolat TH5	Isolat TH26	Isolat H4	Isolat H7
Kontrol	0 ml/l NA	+	+	+	+
P1	3,5 ml/l NA	+	+	+	+
P2	4 ml/l NA	+	+	+	+
P3	5,5 ml/l NA	+	+	+	+
P4	6 ml/l NA	+	+	+	+
P5	6,5 ml/l NA	+	+	+	+

Keterangan: (+) = Isolat bakteri mampu tumbuh pada 48 jam pengamatan

Pada lahan dengan herbisida menggunakan isolat H4 yaitu *Erwinia* sp. dan H7 yaitu *Pseudomonas* sp. sedangkan pada lahan tanpa herbisida menggunakan isolat TH5 yaitu *Pantoea* sp. dan TH 26 yaitu *Erwinia* sp. 4 isolat tersebut di lakukan 5 perlakuan 1 kontrol dengan 3 ulangan, hasil yang di dapatkan pada 4 isolat tersebut yaitu isolat bakteri tumbuh setelah 24-48 jam diinkubasi pada semua perlakuan sehingga dapat diketahui bahwa Bakteri tersebut resisten terhadap herbisida berbahan aktif *Glifosat* 42% dan dari beberapa jenis bakteri tersebut terdapat kemungkinan bahwa bakteri tersebut dapat berperan penting dalam mentransformasi dan mendegradasi residu herbisida.

Bakteri tersebut menyebabkan residu yang semula sangat toksik menjadi tidak toksik bagi kesehatan dan lingkungan (Panjaitan, 2016). Bakteri rizosfer mempunyai peran yang sangat penting terhadap lingkungan sekitar pertanaman dan berpengaruh pada tanaman tersebut. Senyawa dalam pestisida dapat dimanfaatkan oleh mikroba baik sebagai sumber energi atau nutrisi dan sebagai

co-metabolisme dengan substrat lain yang dapat mendukung pertumbuhan mikroba (Castillo, 2008).



Gambar 18. Hasil pengujian isolat pada media NA dengan herbisida, (a) : isolat TH5 P1, (b): isolat H7 P2, (c) : isolat TH26 P3, (d) : isolat H7 P4, (e): isolat H4 P5 pada 48 jam pengamatan

Bakteri juga berpotensi sebagai pendegradasi yang dapat mengeluarkan suatu enzim untuk dapat merombak suatu senyawa kompleks menjadi senyawa yang lebih sederhana. Salah satu contohnya adalah bakteri *Pseudomonas putida* yang dapat menghasilkan senyawa organofosfat hidrolase yang berguna untuk mengkatalis reaksi hidrolisis pestisida organofosfat. Pada reaksi hidrolisis ini, enzim organofosfat hidrolase akan menghidrolisis ikatan fosfoester dari organofosfat serta mengurangi toksisitas organofosfat (Wijaya *et al.*, 2014). Bakteri rizosfer selain bisa sebagai pendegradasi senyawa herbisida juga dapat digunakan sebagai agens bioremediasi pada tanah yang tercemar herbisida. Hal ini sesuai dengan pernyataan (Kumia *et al*, 2009) Bioremediasi merupakan suatu teknologi untuk merehabilitasi tanah tercemar yaitu dengan memanfaatkan mikroba baik bakteri maupun fungi. Pada bakteri *Erwinia* sp. dan *Pantoea* sp. yang juga tahan terhadap perlakuan herbisida, keduanya mempunyai potensi sebagai patogen dan non patogen sehingga kedua bakteri ini dapat dikatakan resisten dan tahan, sehingga bakteri yang tergolong non patogen dapat menjadi

pengendali hayati. Bakteri anggota genus *Erwinia* mampu melawan antibiotik yang dihasilkan oleh bakteri antagonis dikarenakan bakteri anggota genus *Erwinia* mampu mengantisipasi dengan cara menghasilkan senyawa yang dapat mendegradasi antibiotik. (Tasnim *et al.* , 2013).



V. PENUTUP

5.1 Kesimpulan

1. Hasil kelimpahan bakteri rizosfer pada pertanaman polikultur pinus dan kopi adalah 28 pada lahan tanpa herbisida dan 12 pada lahan dengan herbisida dengan bentuk koloni dan morfologi yang berbeda.
2. Pada isolat dan telah diidentifikasi hingga tingkat genus diantaranya bakteri tersebut yaitu *Erwinia* sp., *Pantoea* sp., *Pseudomonas* sp., *Xanthomonas* sp., *Bacillus* sp., dan *Clostridium* sp. yang mempunyai potensi salah satunya yaitu sebagai patogen dan non patogen yang dapat menjadi pengendali hayati pada tanaman.
3. Dari hasil identifikasi tersebut dilakukan pengujian isolat bakteri yang dominan yaitu *Erwinia* sp., *Pantoea* sp., *Pseudomonas* sp. pada media NA dan herbisida bahan aktif *Glifosat* 42% dan didapatkan hasil bahwa bakteri tersebut mampu tumbuh pada media dengan campuran herbisida pada 5 perlakuan dengan konsentrasi berbeda.

5.2 Saran

Saran dari penelitian ini yaitu perlu adanya penelitian lanjutan yang perlu dilakukan untuk mengetahui bakteri pada genus apa yang berpotensi untuk menunjang kesehatan lahan dan yang berpotensi untuk menjadi agens antagonis terhadap patogen penyebab penyakit serta identifikasi isolat hingga tingkat spesies.

DAFTAR PUSTAKA

- Abadi, A.L., 2003. Ilmu Penyakit Tumbuhan 2. Bayumedia Pulishing. Malang. Jawa Timur.
- Afizar dan Iin, P., 2017. Bakteri Endofit Asal Akar Kopi dan Potensi Sebagai Pengendali Penyakit Akar Putih *Rigidoporus microporus*. Jurnal Bioleuser. Universitas Syiah Kaula. 1 (2) p: 8
- Agrios, G.N. 1996. Ilmu Penyakit Tumbuhan (Terjemahan Munzir Busnia). Gadjah Mada University Press.
- Ardi, R. 2009. Kajian Aktivitas Mikroorganisme Tanah pada Berbagai Kelerengan dan Kedalaman Hutan Alam. Skripsi. Departemen Kehutanan. Universitas Sumatera Utara. Medan.
- Aryulina, D., Choirul, M., Syalfinaf, M., Endang, W. W., 2004. Biologi 1 SMA dan MA untuk Kelas X. Erlangga. Yogyakarta. p 61
- Badan Usaha Akademik. <http://bua.ub.ac.id/ubforest/> di unduh pada 3 Desember 2017
- Baker, S.K., Cook J.R. 1974. Biological Control of Plant Pathogens. San Fransisco: WH Freeman and Company.
- Berg G. 2009. Plant–microbe interactions promoting plant growth and health: perspectives for controlled use of microorganisms in agriculture. Applied Microbiology and Biotechnology, 84(1) p: 11-18.
- Carlile. M.J., Watkinson, S.C., Goodday, G.W. 2001. The Fungi. 2nd. Academy Press, New York, London. Daxenbichler ME, Spencer GF, Carlson
- Castillo, M.A., Felis N., Arago P., Cuesta G., dan Sabater C.. 2006. Biodegradation of The Herbicide Diuron by Streptomyces Isolats from Soil. *International Biodeterioration & Biodegradation* 58: p 196–20.
- Defitri, Y., 2016. Pengamatan Beberapa Penyakit yang Menyerang Tanaman Kopi (*Coffea* Sp) di Desa Mekar Jaya Kecamatan Betara Kabupaten Tanjung Jabung Barat. Jurnal Media Pertanian 1 (2): P 81
- Djojosumarto, P. 2008. Panduan Lengkap Pestisida & Aplikasinya. Jakarta. Agro Media Pustaka.
- Emalinda, O., Ari, P.W., dan Agustian. 2003. Pengaruh Herbisida Glifosat Terhadap Pertumbuhan Dan Keragaman Mikroorganisme Dalam Tanah Serta Pertumbuhan Tanaman Kedelai (*Glicyne Max* (L.) Merr.) Pada Ultisol. Stigma 11 (4) p : 310

- Erida, G. dan H. Evisa. 2010. Aplikasi Beberapa Dosis Herbisida Paraquat pada Biduri dengan Umur yang Berbeda. *J. Floratek*. 5: 94– 102.
- Gandjar, I., Wellyzar, S., dan Ariyanti, O. 2006. Mikologi Dasar dan Terapan. Yayasan Obor Indonesia Jakarta.
- Holt, J. G., et al. (1994). *Bergey's Manual of Determinative Bacteriology* (Ninth Edition). USA: A Waverly Company.
- Hurek, B.R. and T. Hurek. 2011. Living inside plants: Bacterial Endophytes. *Current Opinion in Plant Pathology* 14: 435–443
- Jeger, M.J. 2001. Biotic interaction and plant-pathogen association. In: Jeger MJ, Spence NJ. *Biotic Interaction in Plant. Pathogen Association*. New York (USA): CABL publishing.
- Kegley, S.E., Hill, B.R., Orme S., and Choi A.H. 2010. Glufosinate. <http://www.pesticideinfo.org>. Di unduh 12 Desember 2017.
- Kerr, A., dan Gibb, K. 1997. Bacteria and Phytoplasma as Plant Parasities. In: *Plant Pathogen and Plant Disease*, J.F. Brown and H.J. Ogle (Eds). Armidale: Australian Plant Pathology Society.
- Lelliot, R.A. dan Stead, D.E. 1987. Methods for the diagnosis of bacterial diseases of plants. In: Preece TF, ed. *Methods in Plant Pathology*, vol 2. Oxford, UK: Blackwell Scientific Publications. p 44-56
- Lestari, P., B. dan Triasih, W., H. 2017. Mikrobiologi Berbasis Inkuiry. Gunung Samudera. Malang. p 192-194
- Lumbanraja, Parlindungan. 2013. Rhizosfer dan Bakteri Pelarut Fosfat. Sekolah Pascasarjana Universitas Sumatera Utara. Medan. p 2
- Marianah, L. 2015. <http://www.bppjambi.info/dwnpublikasi.asp?id=157>. Di unduh pada Jumat 29 Desember 2017
- Mukamto. S.U., Weda, M., Ahmad, S., Laila, I., Guntur, T. 2015. Isolasi dan Karakterisasi *Bacillus* sp. Pelarut Fosfat dari Rhizosfer Tanaman Leguminosae. , Jurusan Biologi FMIPA Universitas Negeri Surabaya. 3 (2) : 63.
- Nasahi, H. C. 2010. Peran Mikroba dalam Pertanian Organik. Tesis. Universitas Padjajaran. Bandung
- Nurmegawati, A. dan Sugandi, D. 2014. Kajian Kesuburan Tanah Perkebunan Karet Rakyat di Provinsi Bengkulu. *J. Litri Puslitbang Perkebunan*. 20 (1) : 17-26.

- Panjaitan, F.J., Bayu, A., dan Taufiq, B. 2016. Isolasi Bakteri Pendegradasi Herbisida Dari Rhizosfer Tanaman Padi Sawah Dan Tanaman Hutan. Departemen Ilmu Tanah dan Sumberdaya Lahan, Fakultas Pertanian IPB. p 1
- Patkowska, E. 2002. The Role of Rhizosphere Antagonistic Microorganism in Limiting the Infection of Underground Part of Spring Wheat. <http://www.ejpau.media.pl/series/volume/5/issue/2/horticultura/art-04>.
- Prayudyaningsih, R. , Nursyamsi, dan Ramdana, S. 2015. Mikroorganisme tanah bermanfaat pada rhizosfer tanaman umbi di bawah tegakan hutan rakyat Sulawesi Selatan. Balai Penelitian Kehutanan (BPK) Makassar. PROS SEM NAS MASY BIODIV INDON. 1 (4) : 2
- Saraswati, R., dan Sumarno. 2008. Pemanfaatan Mikroba Penyubur Tanah sebagai Komponen Teknologi Pertanian. Iptek Tanaman Pangan. 3 (1) : 44-48
- Sastrahidayat, I., R. 2014. Peranan Mikroba Bagi Kesehatan Tanaman dan Kelestarian Lingkungan. UB Press. Malang. P 42-43.
- Sastrahidayat, I., R. 2015. Strategi Pengendalian Organisme Pengganggu Tanaman dalam Usaha Pertanian di Daerah Tropika Basah. UB Press. Malang. P 40-41.
- Sembodo, D. R. J. 2010. Gulma dan Pengelolaannya. Graha Ilmu. Yogyakarta.
- Setiowati, T., dan Deswaty, F., 2007. Biologi Interaktif untuk SMA/MA. Azka Press. Jakarta. P 33-37
- Simarmata T. 2013. Tropical bioresources to support biofertilizer industry and sustainable agriculture in Indonesia. Presented in International Seminar on Tropical Bio-resources for Sustainable Bioindustry 2013; from Basic Research to Industry, 30-31st October 2013 in West and East Hall-ITB-Bandung-Indonesia. 26 p.
- Simatupang, D.S. 2008. Berbagai Mikroorganisme Rizosfer Pada Tanaman Pepaya (*Carica Papaya* L.) Di Pusat Kajian Buah-Buahan Tropika (Pkbt) Ipb Desa Ciomas, Kecamatan Pasirkuda, Kabupaten Bogor, Jawa Barat. Skripsi. Institut Pertanian Bogor, Bogor.
- Sulistinah, N., S. Antonius., dan Maman R., 2011. Pengaruh Residu Pestisida Terhadap Pola Populasi Bakteri Dan Fungi Tanah Di Rumahkaca. Bidang Mikrobiologi Pusat Penelitian Biologi-LIPI. Jakarta. 12 (1) p : 46

- Sullivan P. 2004. Sustainable Soil Management. National Sustainable Agriculture Information Service. ATTRA Publication. 31 p.
- Schaad, N.W., Jones, J.B., and Chun, W. 2001. Laboratory Guide for Identification of Plant Pathogenic Bacteria. APS Press, The American Phytopathological Society, St Paul Minnesota. p.270.
- Tasnim, S., Kuwari, R., & Astiti, N.P.A. 2013. Efektivitas Daya Hambat Bakteri *Streptomyces* sp Terhadap *Erwinia* sp Penyebab Penyakit Busuk Rebah Pada Tanaman Lidah Buaya (*Aloe barbadensis* Mill). Jurnal Simbiosis. 1 (1) p: 5
- Wardoyo, S. S. 2001. Pengaruh Residu Herbisida Glifosat Terhadap Ciri Tanah Pertumbuhan Tanaman. J. Il. Pert. Indon. 10 (1): 1-9.
- Widawati dan Suliasih. 2006. Populasi bakteri pelarut fosfat (BFF) di Cikaniki, Gunung Botol, dan Ciptarasa, serta kemampuannya melarutkan p terikat di media pikovskaya padat. Biodiversitas. 7: 109-113.
- Widiastuti, A., Wahyu, A., Wibowo, A., dan Christanti, S., 2011. Uji Efektivitas Pestisida terhadap Beberapa Patogen Penyebab Penyakit Penting pada Buah Naga (*Hylocereus* sp.) Secara *In vitro*. Jurnal Perlindungan Tanaman Indonesia. 17 (2) : 74
- Widowati, T., Rohani, C.B.G., Utut, W., Asepnugraha, dan Ardiwinata. 2017. Isolasi Dan Identifikasi Bakteri Resisten Herbisida Glifosat Dan Paraquat Dari Rizosfer Tanaman Padi. IPB. Bogor
- Wijaya, A.S., Prasetyawan, S., dan Roosdiana A. 2014 Karakterisasi Enzim Organofosfat Hidrolase dari *Pseudomonas putida* pada Substrat Diazinon dan Malathon.
- Yunasfi. 2002. Faktor-faktor yang Mempengaruhi Perkembangan Penyakit dan Penyakit yang Disebabkan oleh Jamur. Fakultas Pertanian Universitas Sumatra Utara. USU digital library. p 8

DAFTAR TABEL

Nomor	Teks	Halaman
1.	Tabel 1. Distribusi mikroorganisme dalam horizon dari suatu profil tanah (Marianah, 2015).....	5
2.	Tabel 2. Penelusuran budidaya tanaman	19
3.	Tabel 3. Hasil pengamatan karakteristik isolat bakteri pada lahan tanpa herbisida	22
4.	Tabel 4. Hasil pengamatan karakteristik isolat bakteri pada yang dengan herbisida	23
5.	Tabel 5. Karakteristik fisiologi dan biokimia bakteri lahan dengan herbisida	25
6.	Tabel 6. Karakteristik fisiologi dan biokimia bakteri lahan tanpa herbisida	25
7.	Tabel 7. Hasil identifikasi bakteri rizosfer pada lahan dengan herbisida dan tanpa herbisida sampai tingkat genus	31
8.	Tabel 8. Hasil pengujian isolat bakteri dengan media NA yang ditambah perlakuan konsentrasi Herbisida pada pengamatan 48 jam	35
Lampiran		
1.	Uji T kelimpahan bakteri rizosfer padapengenceran 108 lahan herbisida dan tanpa herbisida polikultur tanaman kopi dan pinus	43
2.	Perhitungan kelimpahan koloni bakteri.....	44